



Facultad de Ciencia y Tecnología

Escuela de Biología del Medio Ambiente

**Aspectos del desarrollo larval de *Gastrotheca litonedis*, 1987 (anura:
hemiphractidae) en cautiverio.**

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:

Biólogos del Medio Ambiente

Autores: Ernesto José Arbeláez Ortiz, Diana Amanda Vega Toral

Director: Edwin Javier Zárate Hugo

Cuenca, Ecuador

Julio 2014

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, a nuestro hijo que viene en camino para que el también sea un amante y defensor de la naturaleza. A mis papás, ellos han sido mi motor, mi ejemplo de vida y mi apoyo incondicional. Gracias por contagiarme ese maravilloso sentimiento de contemplación y pasión por las diferentes formas de vida y gracias mami por mostrarme con ejemplo la entrega y dedicación a compartir lo que uno sabe y tiene. A mi compañero de vida y de sueños, colega, esposo y mejor amigo, gracias por tener tanto amor, entrega y dedicación a tus animalitos, plantas. A mis ñaños y sobrinos por estar ahí apoyándome siempre. Sin ustedes esto no hubiera sido posible y por último a la madre naturaleza, gracias por hacerme vivir día a día con tantas y maravillosas criaturas y por poder aportar un granito de arena para su conservación.

Amanda

Deseo dedicar este estudio de tesis a mi compañera de sueños y amor de mi vida y a nuestro pequeño retoño para que él sea un amante y protector de la naturaleza, a mi madre, hermana por el apoyo incondicional que siempre me han brindado para todos los proyectos y aventuras y a todo el personal y seres vivos de Amaru que en estos doce años siempre me han proporcionado la fuerza, energía, aliento y me han maravillado para poder continuar con entusiasmo generando acciones en pro del conocimiento y conservación de la biodiversidad.

Ernesto

AGRADECIMIENTOS

A las ranitas marsupiales por tener adaptaciones tan increíbles, al Amaru Zoológico Cuenca con su centro de conservación de anfibios por las acciones y programas que llevan a cabo en pro del conocimiento y protección de los anfibios, al doctor Luis Coloma y el centro Jambatu de conservación e investigación de anfibios ecuatorianos, por su ayuda y la pasión que nos ha contagiado por estos animales. Al Biólogo Edwin Zárate por el oportuno direccionamiento con esta tesis y a los Biólogos Raffaella Ansaloni, David Siddons, Chelsea Korfel y Vinicio Santillán por los consejos y asesoramiento. Al personal administrativo de la facultad de Ciencia y Tecnología por su apoyo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice de Contenidos.....	iv
Índice de Ilustraciones y Cuadros.....	v
Índice de Anexos.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
Introducción.....	9
Problemática.....	14
Objetivos.....	17
Hipótesis.....	18
Metodología	
Área de estudio.....	19
Instalaciones y variables.....	20
Registro de datos.....	23
Resultados y discusión.....	25
Conclusiones y recomendaciones.....	54
Referencias	
Glosario.....	57
Bibliografía.....	63

Anexos.....	66
-------------	----

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Composición de las dietas.....	14
Tabla 2: Tratamientos.....	15
Tabla 3: Tabla de vida de <i>Gastrotheca litonedis</i>	40
Figura 1: Desarrollo de las larvas.....	17
Figura 2: Desarrollo vs temperatura.....	18-19
Figura 3: Desarrollo vs iluminación.....	19-20
Figura 4: Desarrollo vs dietas.....	20-21
Figura 5: Mortalidad en tratamientos.....	22
Figura 6: Mortalidad vs temperatura.....	23
Figura 7: Mortalidad vs iluminación.....	24
Figura 8: Mortalidad vs dieta.....	24
Figura 9: Causas de mortalidad.....	25
Figura 10: Mortalidad por tratamiento.....	26
Figura 11: Mortalidad en estadios.....	27
Figura 12: Salud de las larvas.....	28
Figura 13: Salud vs temperatura.....	29
Figura 14: Salud vs iluminación.....	29
Figura 15: Salud vs dietas.....	30

Figura 16: Enfermedades registradas.....	31
Figura 17: Enfermedades en los tratamientos.....	31
Figura 18: Longitud total por estadios.....	32
Figura 19: Longitud corporal por estadios.....	33
Figura 20: Ancho cuerpo por estadios.....	34
Figura 21: Alto cuerpo por estadios.....	35
Figura 22: Longitud cola por estadios.....	36
Figura 23: Altura máxima cola por estadios.....	37
Figura 24: Distancia narinas por estadios.....	38
Figura 25: Distancia interorbital por estadios.....	39
Figura 26: Peso por estadios.....	39
Figura 27: Tasa mortalidad específica por estadios.....	41
Figura 28: Supervivencia específica por estadios.....	42
Figura 29: Análisis de costos de los tratamientos.....	43
Figura 30: Tabla de los estadios de Gosner de <i>Gatrotheca litonedis</i>	44

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Holotipo de <i>Gastrotheca litonedis</i>	59
Anexo 2: Mapa de distribución potencial de <i>Gastrotheca litonedis</i>	60
Anexo 3: Tabla de Gosner.....	61
Anexo 4: Instalaciones de la investigación.....	62
Anexo 5: Alimentos.....	63
Anexo 6: Alimentación diaria de renacuajos.....	64
Anexo 7: Acuarios individuales.....	65
Anexo 8: Tabla de registro diario de desarrollo.....	66
Anexo 9: Tabla de registro diario de mortalidad.....	67
Anexo 10: Tabla de registro diario de salud.....	68
Anexo 11: Toma mensual de medidas.....	69
Anexo 12: Toma mensual de pesos.....	70
Anexo 13: Tabla de registro mensual de peso.....	71
Anexo 14: Tabla de registro mensual de longitud.....	72
Anexo 15: Tabla de registro diario de temperatura.....	73
Anexo 16: Tabla de registro semanal calidad del agua antes de ser usada.....	74
Anexo 17: Tabla de registro semanal calidad del agua después de ser usada.....	75

**ASPECTOS DEL DESARROLLO LARVAL DE *GASTROTHECA LITONEDIS*,
1987 (ANURA: HEMIPHRACTIDAE) EN CAUTIVERIO**

RESUMEN

Este estudio analizó en 210 días aspectos del desarrollo larval de *Gastrotheca litonedis* en cautiverio. Fueron aplicados 12 tratamientos distintos a una cohorte de 120 individuos en estadio 31 de Gosner. Los renacuajos fueron manejados en acuarios individuales y se realizaron 10 repeticiones por tratamiento. Las variables fueron diferentes: iluminaciones, temperaturas y dietas. El tratamiento más efectivo usó temperatura constante, iluminación natural y dieta omnívora, este aceleró el desarrollo, presentó larvas más saludables y disminuyó mortalidad. Este estudio aporta importante información que apoyará las técnicas de manejo in situ de instituciones que trabajan en conservación de anfibios.

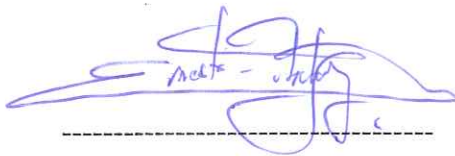
PALABRAS CLAVE: Conservación anfibios, reproducción cautiverio, anfibios, conservación, desarrollo larval.



Msc. Edwin Javier Zárate Hugo
Director de tesis



Msc. Edwin Javier Zárate Hugo
Director de escuela



Ernesto José Arbeláez Ortiz
Tesista



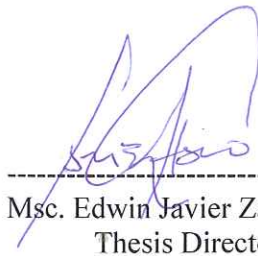
Diana Amanda Vega Toral
Tesista

ABSTRACT

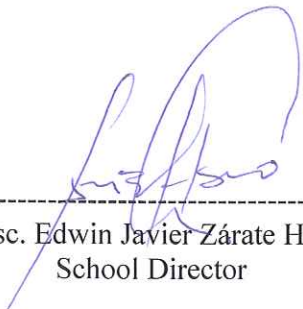
ASPECTS OF GASTROTHECA LITONEDIS LARVAL DEVELOPMENT IN CAPTIVITY, 1987 (ANURA: HEMIPHRACTIDAE)

This research analyzed the larval development of *Gastrotheca litonedis* in captivity over a period of 210 days. Twelve different treatments were applied to 120 individually housed tadpoles (10 tadpoles per treatment) beginning at Gosner stage 31. Variables included: light, temperature and diet. The treatment which yielded fastest maturation of tadpoles, healthier tadpoles and lower mortality rates used constant temperature, natural light and an omnivorous diet. The results of this study provide useful guidelines that will inform conservation projects working with in situ amphibian populations.

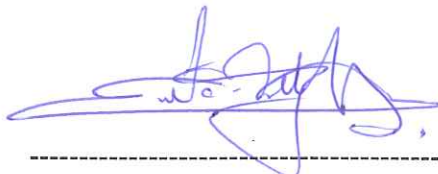
KEYWORDS: Conservation, Amphibian, Breeding, Captivity, Amphibian Conservation, Larval Development.



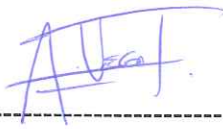
Msc. Edwin Javier Zárate Hugo
Thesis Director




Msc. Edwin Javier Zárate Hugo
School Director



Ernesto José Arbeláez Ortiz
Author



Diana Amanda Vega Toral
Author



Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

Arbeláez Ortiz Ernesto José

Vega Toral Diana Amanda

Blgo. Edwin Javier Zárate Hugo Ms. C

Julio del 2014

**ASPECTOS DEL DESARROLLO LARVAL DE *Gastrotheca litonedis*, 1987
(ANURA: HEMIPHRACTIDAE) EN CAUTIVERIO.**

INTRODUCCIÓN

Gastrotheca litonedis o Rana marsupial del Azuay es una especie endémica del Ecuador que se encuentra en peligro de extinción según los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y según la lista roja de anfibios del Ecuador (Coloma, L. A. *et al* 2011-2012). Está amenazada debido a que su rango de distribución conocido se encuentra registrado en un área menor a los 5000 km² (unos 1750 km² aproximadamente), además su hábitat se encuentra severamente fragmentado, afectado por varias actividades antrópicas, especies invasoras y hay una continua degradación de la calidad y tamaño del hábitat, así también el número y cifras de individuos maduros encontrados durante monitoreos en sus poblaciones naturales en los últimos años han revelado disminuciones por declinaciones aparentes relacionadas a quitridiomycosis y destrucción de su hábitat (UNEP-WCMC. 2012, Coloma, L. A. *et al* 2010, Almendáriz, A. & Orcés G. 2004).

W. E. Duellman y D. M. Hillis en (1987), describen al holotipo de *G. litonedis*: KU 202690, colectado 10 km al noreste de Girón a 2750 metros sobre el nivel del mar y en las coordenadas (03° 05' S, 79° 06' W), Provincia Azuay, Ecuador. Ver Anexo 1. Esta

especie se distribuye en bosques inter montanos occidentales y orientales de las provincias de Azuay y Cañar, habita en los ecosistemas de páramo, matorral interandino y bosques montanos. Según la UCIN, el Museo Americano de Historia Natural y el museo de zoología (QCAZ) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador se conocen formalmente diez localidades donde se ha registrado a esta especie en la provincia del Azuay y Cañar, estas son: Bosque Protector de Mazán, Girón, Sayausi, Biblián, Tarqui-Patapamba, Dayuma, Cumbe, Sustag de Yanuncay, Sigsig, Cuenca y Paute, estas locaciones fluctúan entre alturas que van desde los 2200 metros hasta los 3600 metros sobre el nivel del mar mar (Frenkel C. *et al.*, 2013, Frost, Darrel R. 2013). Ver anexo 2.

Su estado poblacional es desconocido, entre las amenazas más relevantes en su rango de distribución tenemos: deforestación, fragmentación del hábitat natural, ampliación de la frontera agrícola, asentamientos humanos, quemas, uso de pesticidas y contaminación de agua y suelo, plantaciones forestales con especies exóticas, especies invasoras como la trucha, aves de corral, ganado, cambio climático y enfermedades infecciosas como la quitridiomycosis (Coloma, L. A. *et al* 2010, Arbeláez, E. & Vega A. 2008).

Este vertebrado taxonómicamente es perteneciente a la clase Anfibia con 7044 especies a nivel mundial, a la subclase Lissamphibia, al superorden Salientia, al orden Anura con 6200 especies, la especie fue recientemente reubicada en el 2008 en la nueva familia Hemiphractidae de las ranas incubadoras y marsupiales (Myers, P., *et al*, 2013), pertenece al género *Gastrotheca* que contiene a dieciséis especies representadas en el país, cinco de estas especies dentro de las que se incluye *G. litonedis* son endémicas; la mayoría de estas especies presentes en Ecuador habitan en la cordillera de los Andes, sus estribaciones y 13 de 16 especies se encuentran bajo algún grado de amenaza de extinción (Centro Jambatu, 2013). Su nombre deriva de las palabras griegas “*litos*” que significa “llanura” y “*nedys*” que significa “vientre”, en referencia a “vientre sin marcas” (Coloma, L. A. *et al* 2010).

Sus larvas y adultos son comúnmente confundidos con *Gastrotheca pseustes*, para esto existe una identificación realizada por Duellman y Hills (1987) durante la descripción de esta especie: “Difiere de *Gastrotheca pseustes* por su cabeza más ancha, rostro robusto, membranas ligeramente más extensas, discos digitales más grandes y el vientre uniformemente pálido. Difiere de *G. monticola* y *G. psychrophila* por tener los miembros traseros proporcionalmente más cortos y los flancos pálidos con manchas oscuras. *G. litonedis* también difiere de *G. monticola* en que no tiene la línea cantal oscura, las líneas supra anal pálida y la dorsolateral y las manchas oscuras en el vientre. Difiere de *G. psychrophila* porque el dedo I es casi del mismo tamaño que el dedo II y marcas oscuras usualmente presentes en el dorso” (Duellman & Hills 1987). Sus larvas o renacuajos son similares a las de *G. pseustes*, no existe literatura publicada que manifieste claramente la diferenciación, sin embargo las larvas de esta especie al completar estadios más desarrollados de formación de cuerpo, cola y extremidades presentan normalmente en su dorso y vientre un patrón de piel uniforme, sin membranas prominentes con marcas resaltadas de coloración (Arbeláez & Vega, 2008, Hoogmoed, M. 1967).

Las poblaciones de *Gastrotheca litonedis* en el Azuay se encuentran protegidas en la porción oriental del Parque Nacional Cajas, en el área del bosque protector Yanuncay Irquis, en el bosque protector Mazán y en el bosque protector Aguarongo, sin embargo estudios recientes revelan que existe una acelerada declinación de poblaciones de esta especie y de otras especies de anfibios incluso en áreas naturales protegidas de los Andes ecuatorianos debido a que por ciertas variables analizadas en los bosques y hábitats conservados estas especies están siendo amenazadas con mayor eficacia por la Quitridiomycosis, especies introducidas y el cambio climático global (Frenkel C. *et al.*, 2013, Arbeláez & Vega, 2008).

Las hembras depositan alrededor de 50 a 150 renacuajos según las observaciones realizadas sobre eventos reproductivos ocurridos en el Centro de Conservación de Anfibios – Amaru y en estudios de campo realizados en áreas cercanas a la ciudad de Cuenca (Fitzgerald, K. *et al*, 1979, Siaviachay, F. *et al* Informe no publicado del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, 2013, Arbeláez & Vega, 2008).

Los renacuajos de esta especie son voraces y oportunistas, se alimentan de casi todo lo que este a su alcance: algas, hojas, cortezas, raíces y frutos de plantas andinas nativas, plantas acuáticas, insectos e invertebrados acuáticos o que se ahogan en cuerpos de agua, son caníbales alimentándose de otros renacuajos o depredando incluso a ranas ya formadas que frecuentan los cuerpos de agua donde habitan las larvas (Arbeláez & Vega, 2008).

Existe una tabla de clasificación en la que se categorizan 46 diferentes estadios que sufren cambios estructurales marcados que ocurren en el desarrollo de la mayoría de las especies de larvas del orden anura, esta tabla fue hecha por Gosner en el año 1960 y es usada en el mundo entero para medir el desarrollo de las larvas. Ver Anexo 3. Esta tabla se realizó a partir de estudios sobre la ontogenia larvaria de algunas ranas norteamericanas como son *Rana catesbiana*, en esta se describen estadios y se los categoriza por fases relacionadas con el desarrollo de los embriones al interior del huevo, el crecimiento de branquias, cola-cuerpo, aparición y desarrollo de extremidades y la reabsorción de la cola. Se ha observado que las hembras transportan los huevos fecundados en una bolsa dorsal llamado marsupio, en la cual estos se desarrollan hasta que son depositados en aguas quietas o empozadas como renacuajos entre estadios Gosner 30-31 aproximadamente (Centro Jambatu, 2013., Arbeláez & Vega, 2008).

Esta especie endémica amenazada tiene la prioridad de ser manejada bajo programas de reproducción en cautiverio para de esta manera evitar su potencial extinción. Está siendo

manejada mediante programas formales de conservación ex-situ por tres proyectos a nivel mundial regulados por la agencia de la UICN denominada Arca de Anfibios (Amphibian Ark); estos programas corresponden a iniciativas privadas como es el proyecto Balsa de los Sapos de la PUCE, el Centro de Conservación e Investigación de Anfibios - Jambatu que funcionan en Quito y al Centro de Conservación de Anfibios – Amaru que funciona en Cuenca, (Coloma, L. *et al* 2004) en estos programas esta especie ha venido presentando índices no exitosos en el desarrollo de sus larvas y crecimiento de individuos post metamorfos, al parecer es una especie delicada, que exige de ciertos parámetros claves y óptimos para su adecuado crecimiento, sobrevivencia y manejo en condiciones de cautiverio, en especial durante su fase larvaria debido a que se ha observado que altos niveles de mortalidad han venido ocurriendo en esta especie en el momento en que las larvas sufren sus últimos estadios de metamorfo y se transforman en individuos post-metamorfos (subadultos), muertes causadas por problemas que al parecer están asociadas con la calidad de agua, temperatura, iluminación, nutrición y enfermedades metabólicas e infecciosas (Siaviachay, F. *et al* Informe no publicado del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, 2013., Almeida Diego & Luis Coloma, Centro Jambatu., Andrés Merino, Proyecto Balsa de los Sapos, PUCE., Comentarios personales, 2013).

PROBLEMÁTICA

Los anfibios constituyen una parte importante del ecosistema global, como indicadores de la sanidad del ambiente, contribuyendo a la salud de los humanos. Los anfibios estaban antes de los dinosaurios y sobrevivieron su desaparición; pero, hoy en día, la mitad de ellos están amenazados con la extinción. Manejar la crisis de extinción de los anfibios es uno de los mayores retos en la historia de la humanidad y especialmente en países tan ricos en diversidad de especies de anfibios como Ecuador con 545 especies de anfibios descritas hasta la actualidad y varias otras especies por describir, descubrir o que se extinguieron incluso antes de ser conocidas (Amphibian Ark, 2013., Ron, S.. 2013., Coloma, L. A. *et al* 2010).

La comunidad de conservación global ha formulado una respuesta en un Plan de Acción de Conservación de Anfibios, y una parte integral de esta respuesta es Amphibian Ark (AArk) por medio del cual unas especies seleccionadas, que de otra forma se extinguirían, son mantenidas y criadas en condiciones de cautiverio hasta que puedan ser liberadas de forma segura. Sin un plan inmediato de manejo de anfibios en cautividad como una parte del esfuerzo de conservación, cientos de especies en el mundo y Ecuador podrían perderse para siempre (Amphibian Ark, 2013., Centro Jambatu 2013).

La especie *Gastrotheca litonedis* o Rana marsupial del Azuay es una especie endémica, ecuatoriana que se enmarca dentro de esta prioridad mundial ya que se encuentra en peligro de extinción. La especie tiene la urgencia de ser manejada bajo programas de reproducción en cautiverio para de esta manera evitar su potencial extinción (Amphibian Ark, 2013., Ron, S.. 2013., Centro Jambatu 2013., Coloma, L. A. *et al* 2010). Debido a esto, en Ecuador existen tres centros especializados en el manejo, reproducción y conservación de anfibios que han enfocado esfuerzos e iniciativas en la crianza ex-situ de esta especie, uno de estos centros se localiza en la provincia del Azuay, dentro de su

hábitat y rango de distribución original, ubicado en la periferia de la ciudad de Cuenca, es el centro de conservación de anfibios del Amaru Zoológico y Bioparque de Cuenca (Arbeláez & Vega, 2008, Siaviachay, F. *et al* Informe no publicado del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, 2013).

Especies como *Gastrotheca litonedis* y *G. pseustes* que son manejadas en estos centros han presentado índices bajos de éxito en el desarrollo de sus larvas, al parecer son especies delicadas y exigentes en su manejo en cautiverio y han presentado niveles preocupantes de mortalidad, en especial durante su fase larvaria asociándose la mortalidad con mal formaciones, deficiencias metabólicas, nutricionales, vitamínicas al momento de pasar de estadios de metamorfo a post-metamorfo, problemas que al parecer están asociadas a diferentes variables que se usan en el manejo ex-situ como son la calidad de agua, temperatura, iluminación, nutrición y enfermedades infecciosas como la Quitridiomycosis (Pessier, A. & Mendelson, J. 2010, Siavichay, F. *et al* Informe no publicado del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, 2013).

Debido a observaciones de campo realizadas durante diferentes estudios del centro de conservación de anfibios Amaru sobre larvas de *G. litonedis* y *G. pseustes* se conoce que las charcas o cuerpos de agua donde habitan presentan distintas temperaturas en la columna de agua y que durante las diferentes horas del día, las larvas usan oportunamente estos espacios de agua con diferentes rangos de temperatura, por ejemplo se ha observado que los renacuajos de estas especies tienen cierta preferencia por pasar la mayor parte del tiempo en áreas o niveles cercanos a la superficie de los cuerpos de agua, en donde comúnmente la temperatura es mayor. También paralelamente se ha observado que estas larvas gustan de tomar baños de sol y aprovechar la radiación solar durante varios minutos en las horas más soleadas del día o durante los días claros y soleados (Centro Jambatu, 2013., Arbeláez & Vega, 2008., Siavichay, F. *et al* Informe no publicado del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, 2013).

Con los antecedentes mencionados este estudio de tesis pretende aportar con información que permita mejorar el conocimiento sobre la biología de desarrollo de la especie y con resultados que apoyen a las técnicas de manejo utilizadas por los diferentes centros e instituciones a nivel mundial que trabajan por la conservación de este tipo de especies, para de esta forma generar acciones que eviten su extinción.

OBJETIVOS

General

Analizar el desarrollo de larvas de *Gastrotheca litonedis* manejadas con distintos tratamientos en condiciones de cautiverio.

Específicos:

- Comparar el desarrollo de las larvas manejándolas de manera individual bajo doce distintos tratamientos.
- Determinar los tratamientos más efectivos en el desarrollo, mortalidad y salud de las larvas.

HIPÓTESIS

Hipótesis verdadera

Diferentes tratamientos de temperatura, dieta e iluminación influyen en el desarrollo de larvas de *Gastrotheca litonedis* en condiciones de cautiverio.

Hipótesis Nula

Diferentes tratamientos de temperatura, dieta e iluminación no influyen en el desarrollo de larvas de *Gastrotheca litonedis* en condiciones de cautiverio.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Esta investigación se desarrolló en los predios del Amaru Zoológico y Bioparque de Cuenca, en los laboratorios del Centro de Conservación de Anfibios Amenazados del Sur del Ecuador (C.C.A.-AMARU), el sitio donde se montó la instalación para este estudio se encuentra ubicado en el costado nororiental del parque Amaru, este parque se encuentra dentro de un área privada de aproximadamente 30 hectáreas de reserva de bosque silvestre urbano caracterizado por poseer remanentes de chaparro andino y eucalipto, el lugar ha sido protegido por más de 60 años por iniciativa privada, esto ha hecho que el área se convierta en un refugio de fauna y flora nativa en esta región nororiental de la ciudad de Cuenca.

Entre la fauna silvestre presente en el sitio podemos nombrar: venados de cola blanca (*Odoncoileus peruvianus*), puerco espines (*Equinoprocta rufescens*), Águilas pechinegras y Gavilanes (*Geranoetus melanoleucus*, *Buteo polyosoma.*), Pájaros Carpinteros (*Piculus rivolii*), Lagartijas Andinas (*Stenocercus festae*), Cuylan Palos (*Pholidobolus macbreiday*) y poblaciones aparentemente estables y saludables de anfibios nativos y endémicos de la región como son las Ranas Marsupiales (*Gastrotheca litonedis*, *G. pseustes*) y los Sapitos de Goma (*Pristimantis riveti*, *P. phoxocephalus*).

El área de estudio se encuentra dentro del rango de distribución natural de *G. litonedis*; especie a la que es frecuente escuchar sus vocalizaciones de decenas de machos congregados en áreas húmedas o cercanas a cuerpos de agua, durante días nublados, lluviosos y durante las noches húmedas; así también es frecuente observar a cientos de renacuajos en los cuerpos de agua quieta presentes en el sitio.

Instalaciones y variables

Durante este estudio se montó una instalación que permitió comparar el desarrollo de larvas de *G. litonedis* bajo la experimentación de doce distintos tratamientos, por cada tratamiento se realizaron diez repeticiones para generar mayores niveles de confianza en los resultados. Se montaron un total 120 acuarios con una larva en cada uno, los acuarios fueron de plástico transparente con una dimensión de 15 cm de largo por 9 cm de ancho y por 9 cm de alto. El nivel del agua se dispuso a los 7 cm de altura. Todos los acuarios tuvieron una tapa para evitar escapes o que potenciales depredadores puedan causar accidentes. En cada tratamiento se manejaron tres variables: temperatura, dieta e iluminación. La instalación tuvo una medida total de seis metros por tres metros, esta presentó una separación de una pared en la mitad para crear dos salas denominadas zona A y zona B. Para acceder a la instalación se utilizó una puerta ubicada en uno de los costados de la zona “B”, cada zona con dimensiones de tres por tres metros. Ver Anexo 4.

La zona denominada “A” fue diseñada para ubicar a los tratamiento de iluminación artificial y estuvo totalmente cerrada, construida con una estructura con techo y paredes de madera, lona y malla para asegurarnos que no entrara luz natural ni potenciales predadores. La zona “B” albergó los tratamientos con iluminación natural y fue hecha de paredes completas de malla, de modo que la luz solar y las condiciones ambientales climáticas interactuaran naturalmente. Las dos zonas se encontraban conectadas por una puerta hecha entre la pared divisoria de las salas A y B. La iluminación artificial se consiguió colocando tubos de neón encima de los acuarios. Se utilizó también un timer o temporizador electrónico marca Osram que automáticamente proporcionaba luz desde las 6:30 am y apagaba las luces a las 18:30 pm, otorgando 12 horas de luz al día a estos tratamientos provisionados de luz artificial.

Cada zona presentó dos sectores, un sector donde se ubicaron los tratamientos que utilizaron agua a temperatura constante y otro sector que uso agua a temperatura

ambiente. La temperatura constante se fijó con termostatos eléctricos marca JAD, esta se mantuvo durante todo el estudio a una temperatura entre 22 y 23 grados centígrados y los tratamientos sometidos a temperatura ambiente presentaron oscilación de la misma durante el día y la noche (como ocurre en el hábitat de la especie), con temperaturas registradas entre los 12 y 19 grados centígrados. Cada sector tuvo tres distintos tratamientos de dietas: omnívora, carnívora y herbívora con diez repeticiones por tratamiento, completando así los 12 tratamientos con los 120 individuos.

Se dispusieron en este estudio dos acuarios grandes de 200 cm x 40 cm x 50 cm para los tratamientos con temperatura constante, estos funcionaron como conjuntos para albergar a los acuarios individuales pequeños en cada zona y de esta manera controlar mejor las variables de la temperatura constante. En la zona A y B respectivamente se ubicaron dos de estos acuarios grandes. Los acuarios que albergaron unidades de tratamiento que usaron temperatura constante contaron con el funcionamiento de dos termostatos eléctricos JAD de 150 galones que estuvieron prendidos las 24 horas de cada día para mantener la temperatura adecuada. Se contó con otros cuatro acuarios grandes que funcionaron como reservorios de agua usada para recambios, esta se mantuvo limpia y en reposo, previamente se la calentó para realizar los recambios de agua de las unidades que albergaron renacuajos en los tratamientos de variable de temperatura constante. El agua siempre provino de los tanques de reserva para todos los acuarios.

Para las tres diferentes dietas se utilizaron productos en polvo desecado de las marcas Sera y SAR. Ver Anexo 5. Estos alimentos garantizan el aporte de proteína animal y vegetal, carbohidratos, fibra y vitaminas. Además permiten de manera sencilla la administración del alimento, sin alterar la química del agua, su turbidez y permiten la correcta alimentación de los renacuajos. A continuación un cuadro con los valores nutricionales de las distintas dietas.

Tabla 1. Composición de las dietas

Dieta Carnívora	
Marca:	Sera
Nombre comercial:	Micron
Composición	Porcentaje
Proteína cruda min.	52.1%
Grasa cruda min.	7.2%
Fibra cruda max.	9.5%
Humedad max.	5.2%
Ceniza max.	9.7%

Dieta Herbívora	
Marca:	SAR
Nombre comercial:	Súper alimento de renacuajos
Composición	Porcentaje
Proteína cruda	25.16%
Fibra cruda	13.08%
Carbohidratos totales	49.08%
Extracto etéreo	5.1%
Cenizas	11.04%
Humedad	9.62%
Calcio	0.84%
Fósforo	0.034%

Dieta Omnívora	
Mezcla de dietas vegetariana y carnívora	

Como se mencionó se establecieron doce distintos tipos de tratamientos que presentaron diferentes usos de las variables analizadas en este estudio.

Tabla 2. Tratamientos

Tratamiento	Código	VARIABLES		
#		Temperatura	Iluminación	Dieta
1	TC-IN-DH	Constante	Natural	Herbívora
2	TC-IN-DC	Constante	Natural	Carnívora
3	TC-IN-DO	Constante	Natural	Omnívora
4	TA-IN-DH	Ambiente	Natural	Herbívora
5	TA-IN-DC	Ambiente	Natural	Carnívora
6	TA-IN-DO	Ambiente	Natural	Omnívora
7	TC-IA-DH	Constante	Artificial	Herbívora
8	TC-IA-DC	Constante	Artificial	Carnívora
9	TC-IA-DO	Constante	Artificial	Omnívora
10	TA-IA-DH	Ambiente	Artificial	Herbívora
11	TA-IA-DC	Ambiente	Artificial	Carnívora
12	TA-IA-DO	Ambiente	Artificial	Omnívora

El agua de los acuarios se renovó dos veces por semana en una proporción del 50%. Se administró una pequeña pizca de alimento en cada acuario, una vez al día. Ver Anexo 6. El agua utilizada para los recambios provino de un tanque de reserva, en donde se la hacía reposar, filtrar y oxigenar. Cuando fue necesario se limpiaron los restos del fondo de los acuario mediante la técnica de sifón. Todos los acuarios fueron acondicionados con tres piedras de grava sólida: dos pequeñas que sirvieron de soporte y una piedra plana larga encima de estas, con el objeto de proporcionarles un escondite y sombra. Ver Anexo 7.

Registro de datos

El registro de datos se realizó durante seis meses, tomando datos de desarrollo, muerte y salud aparente de las larvas dos veces al día: una en la mañana comenzando a las 8h00.

Ver Anexo 8. Ver Anexo 9. Ver Anexo 10. En lo referente al desarrollo se observó y documentó el estadio de Gosner en el que se encontró cada una de las larvas y se fue documentando su desarrollo hasta convertirse en metamorfo. La mortalidad también se valoró durante el estudio, observando y documentando diariamente si el individuo estuvo vivo o muerto. La salud aparente fue valorada tomando en cuenta la observación a simple vista, un renacuajo fue considerado sano si durante su desarrollo no presentaba anomalías en cuanto a su movilidad, ritmo respiratorio, apetito y en la integridad de sus extremidades y boca.

Las medidas corporales y de peso se tomaron una vez por mes a todos los individuos vivos usando un calibrador milimétrico y una pesa electrónica, se utilizaron guantes estériles y desechables para la manipulación de los anfibios. Ver Anexo 11. Ver Anexo 12. Las medidas se tomaron en milímetros y fueron: Longitud Total (LT), Longitud Corporal (LC), Longitud de la cola (LCO), Ancho del cuerpo (AC), Alto del Cuerpo (ALC), Distancia entre las narinas (DN), Distancia Interorbital (DIO), Altura Máxima de la Cola (AMC). Ver Anexo 13. Ver Anexo 14.

La temperatura del agua se registró dos veces por día en cada acuario utilizando los termómetros sumergibles digitales marca JAD: una durante la mañana (8-10 am) y otra durante la tarde (3-5 pm). Ver Anexo 15.

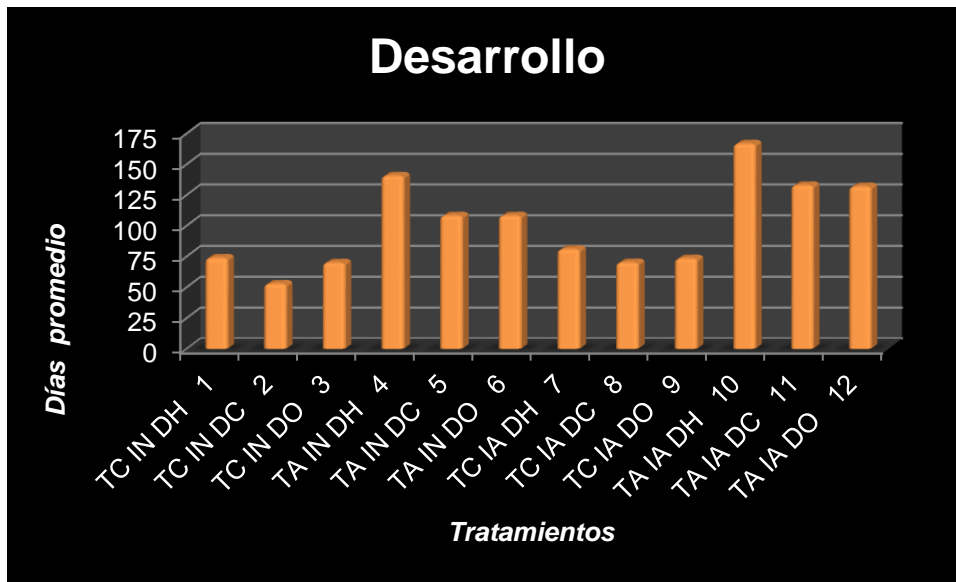
La calidad del agua (el pH y los niveles de amoníaco, nitritos y nitratos) del tanque de reserva que sirvió para los recambios se midió dos veces por semana, para esto se usaron bandas medidoras de pH. Ver Anexo 16. También se midió la calidad del agua usada en los tratamientos que salió producto de los recambios, esto se hizo igualmente dos veces por semana. Ver Anexo 17. El registro fotográfico se realizó con una cámara digital con lente macro de marca Cannon.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El manejo de las larvas de anfibios de este estudio fue realizado con el esfuerzo de dos personas con un total de 210 días, con una inversión de 1260 horas de trabajo. A continuación presentamos y analizamos los resultados obtenidos.

Desarrollo

Figura 1. Desarrollo de las larvas en días



El tratamiento número dos fue el que obtuvo el desarrollo más rápido en 53 (+/- 6.31) días promedio, seguido por el tres y el ocho en 70 (+/-7.23, 7.21) días, en cuarto puesto se encuentra el tratamiento nueve en 72 (+/-9.96) días. El tratamiento que tuvo un desarrollo más lento fue el número diez en 167 (+/- 33.81) días.

La temperatura es sin duda la mayor fuerza que promueve un aceleramiento de la metamorfosis en renacuajos de *G. litonedis*; cuando esta es mayor y constante acelera el desarrollo (Boonman, J. 1985). También se observa que en la variable dietas un factor determinante para acelerar el crecimiento de las larvas es la presencia de proteína animal. Las dietas carnívoras demostraron promover un desarrollo rápido de las larvas, al contrario las dietas basadas principalmente en vegetales y a menor temperatura, estancan el crecimiento haciéndolo más lento (Aubér-Thomay, M. & Letellier, F. 1986). Las temperaturas promedio de los tratamientos durante los 210 días de estudio fueron de 22° a 23°C para los tratamientos que usaron temperatura constante y de 13° a 17°C para los tratamientos que manejaron temperatura ambiente.

Figura 2. Desarrollo vs temperatura

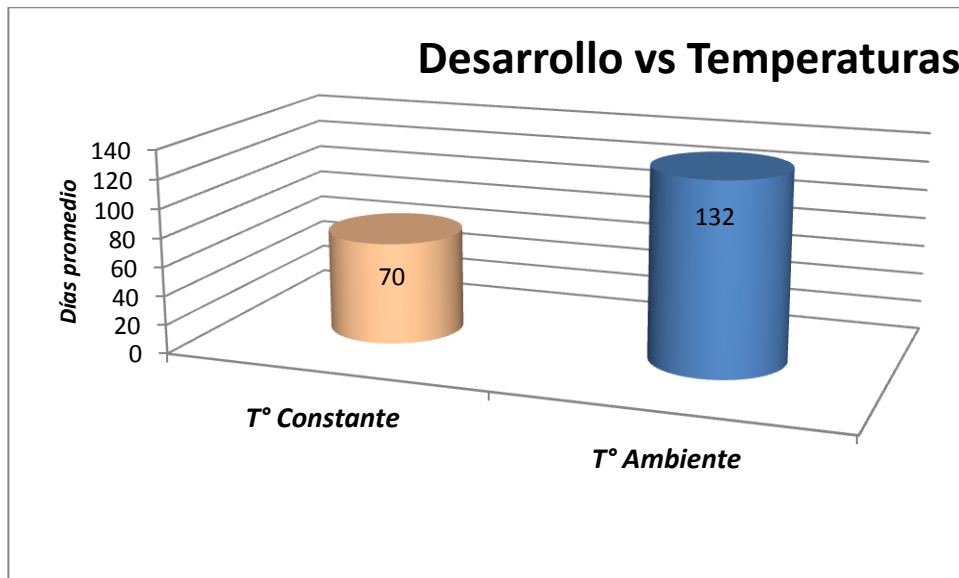
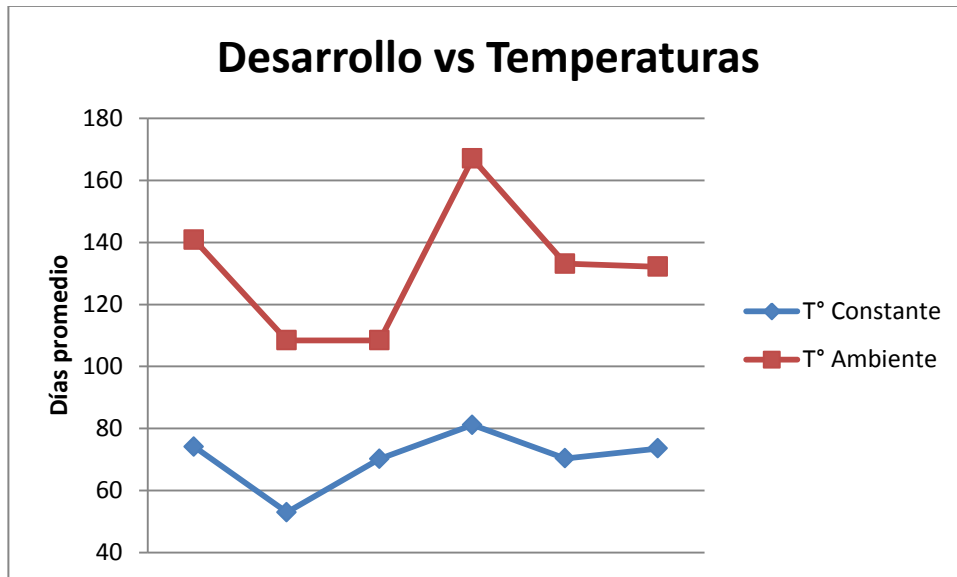


Figura 2. Desarrollo vs Temperatura



Los tratamientos sometidos a temperatura constante tuvieron un desarrollo significativamente más rápido que los que se sometieron a temperatura ambiente (Boonman, J. 1985). El promedio de desarrollo con temperatura constante es de 70 (+/- 9.40) días y el de temperatura ambiente es de 132 (+/- 21.98) días.

Figura 3. Desarrollo vs Iluminación

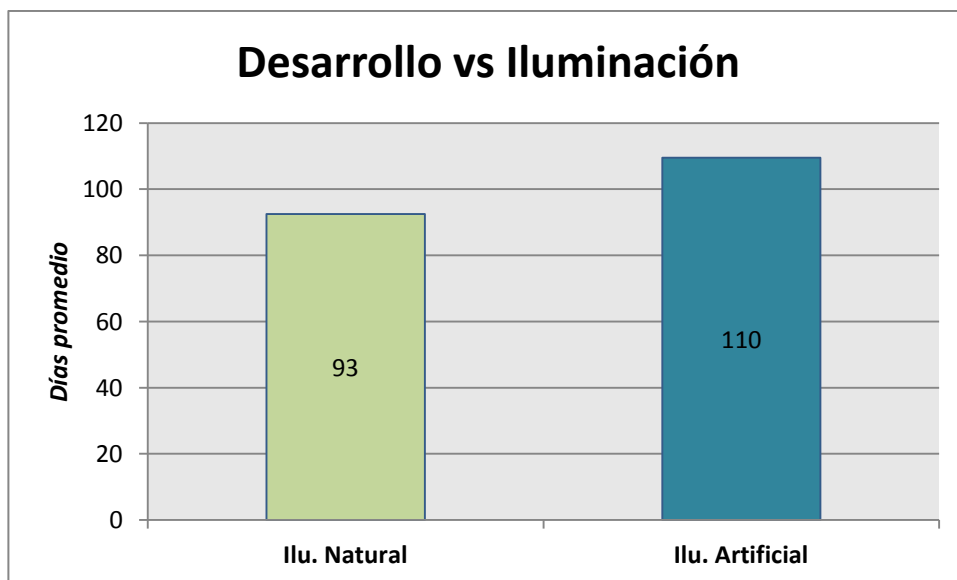
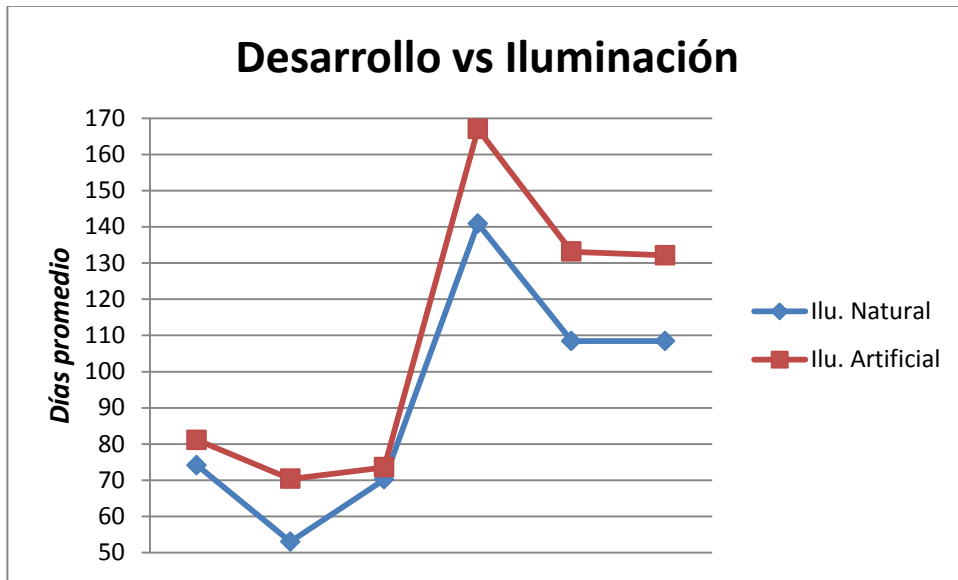


Figura 3. Desarrollo vs iluminación



Los tratamientos que recibieron iluminación natural tuvieron un desarrollo más rápido que los que recibieron iluminación artificial, teniendo una media de 93 (+/- 32.38) y 110 (+/- 40.01) días respectivamente.

Figura 4. Desarrollo vs dietas

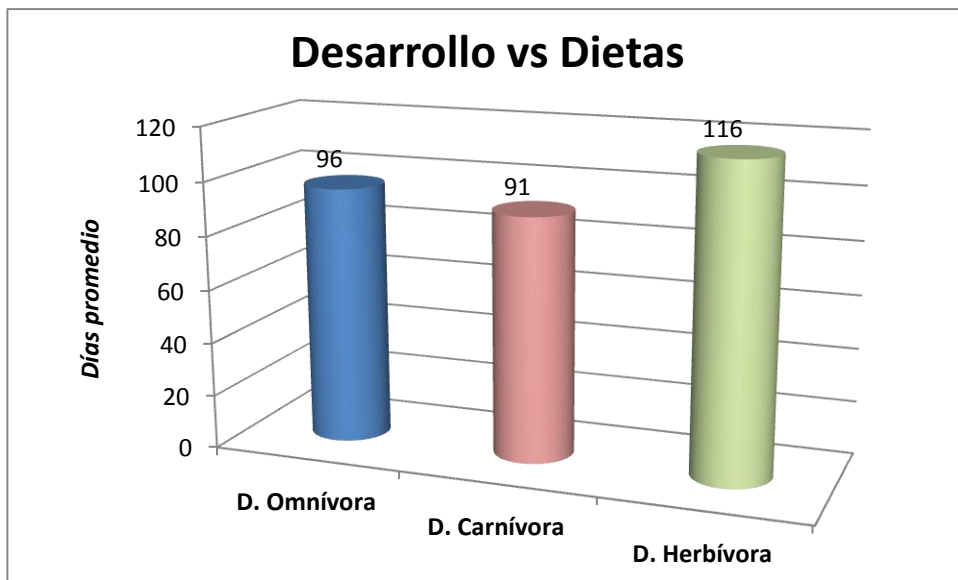
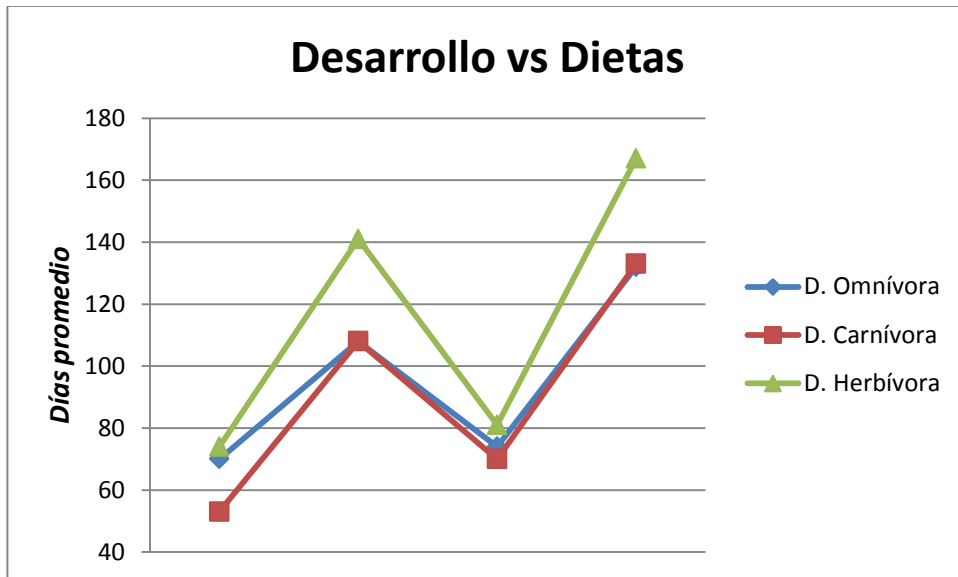


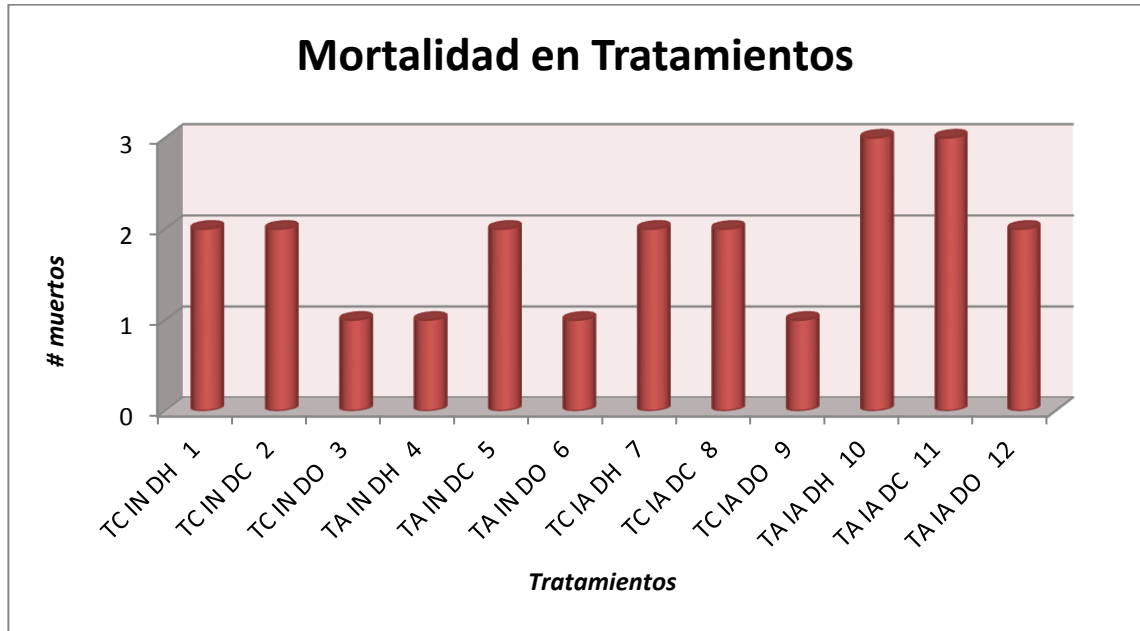
Figura 4. Desarrollo vs dietas



La dieta carnívora tuvo un desarrollo más rápido comparada con la dieta omnívora y la herbívora. El tiempo promedio en días fue de 91 (+/- 36.23), 96 (+/- 29.44) y 116 (+/- 45.51) días respectivamente.

Mortalidad

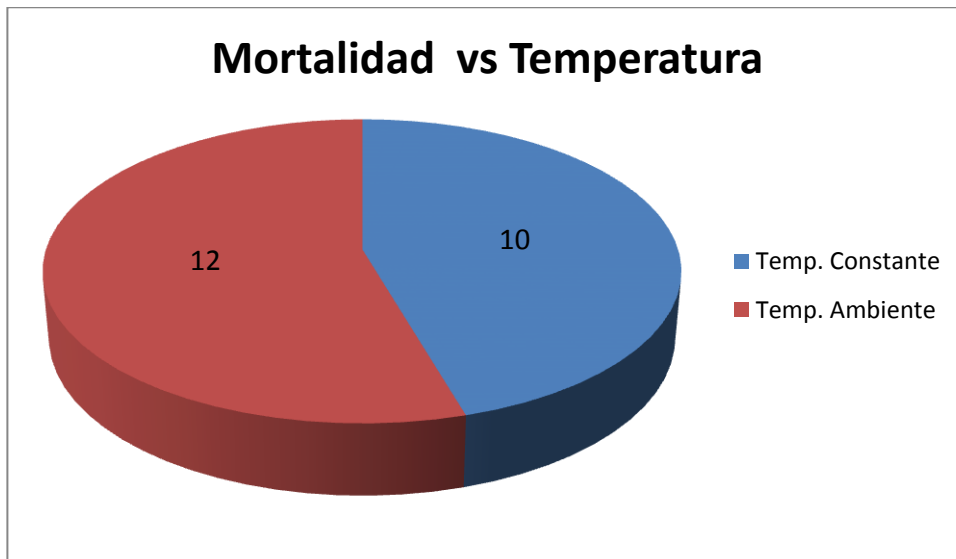
Figura 5. Mortalidad en tratamientos



De manera general en mortalidad se concluye que al finalizar el experimento sobrevivió el 82% de renacuajos y murieron un 18%, equivalentes a 98 y 22 larvas respectivamente. Los tratamientos diez y once fueron los que presentaron mayor mortalidad con tres renacuajos muertos cada uno. Los tratamientos tres, cuatro, seis y nueve presentaron menor mortalidad con un renacuajo muerto en cada uno. Por tanto estos resultados demuestran ser influidos por las variables temperatura e iluminación, tratamientos que estuvieron sometidos a aguas con temperatura ambiente e iluminación artificial en este estudio fueron los que mayor mortalidad demostraron. La temperatura constante y la iluminación natural ayudan a promover el crecimiento sano, natural y equilibrado, de esta manera disminuyendo las tasas de mortalidad en este estudio (Fitzgerald, 1979., Boonman, J. 1985, del Pino, E. & Escobar, B. 1981).

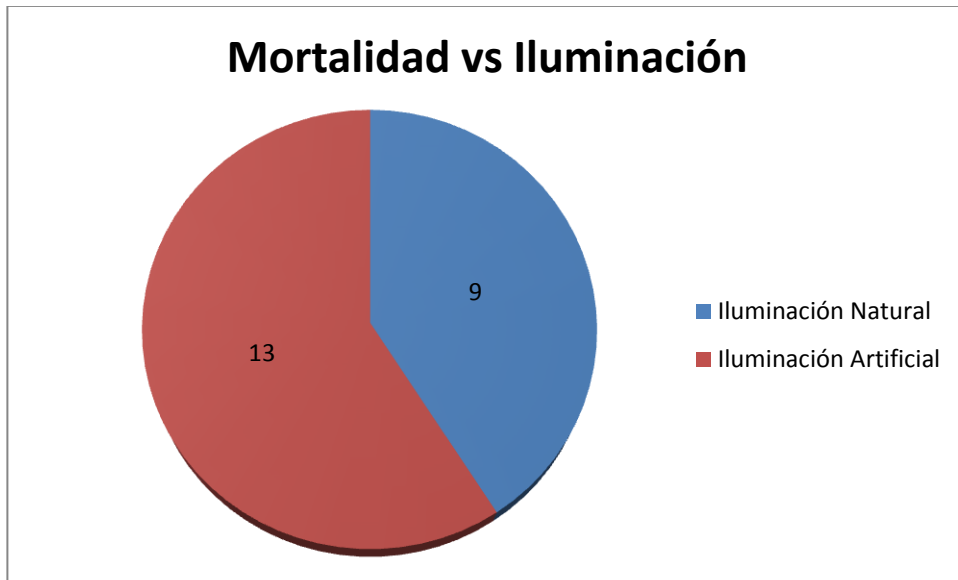
Se observó también que renacuajos que estuvieron sometidos a dietas totalmente carnívoras presentaron mayores niveles de mortandad, pensamos que esto se dio durante los procesos de digestión de proteína animal que representaron para las larvas un fuerte esfuerzo metabólico de ingestión que libera un nivel alto de energía del organismo y que en ocasiones demostró colapsar cuando esto ocurrió en ambientes acuáticos con bajas temperaturas de agua y cuando los días presentaron temperaturas frías del ambiente y agua (los niveles de temperatura coincidieron ser los más bajos del rango promedio cuando este tipo de eventos se suscitaron, temperaturas de 12° a 14°C, información relacionada este tema sobre otras especies de anfibios se puede encontrar en Pessier, A. & Mendelson J. (2010).

Figura 6. Mortalidad vs temperatura



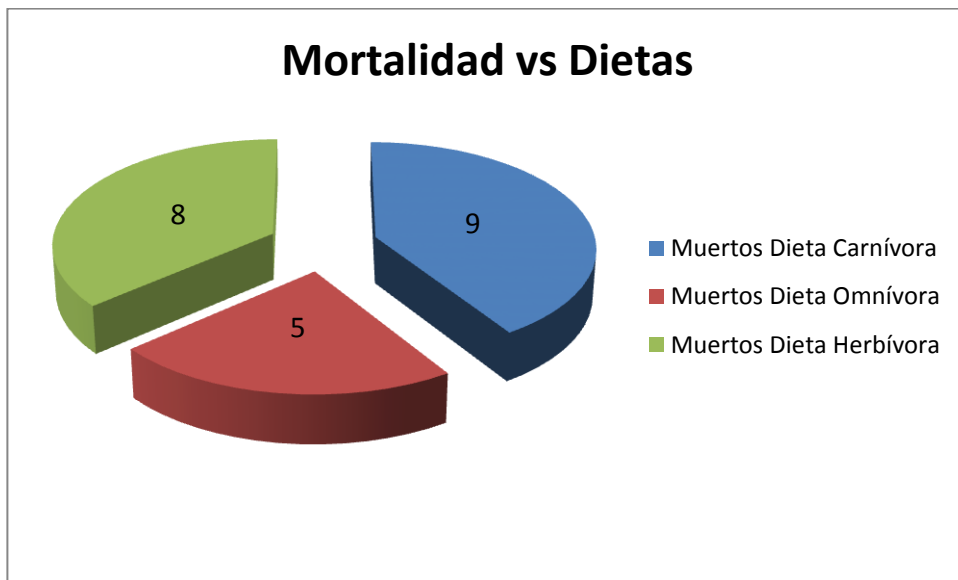
Los tratamientos que tuvieron temperatura constante de entre 22 y 23 °C tuvieron menor mortalidad que los de temperatura ambiente, al finalizar el estudio hubieron diez larvas muertas en tratamientos con temperatura constante y doce larvas muertas en tratamientos con temperatura ambiente.

Figura 7. Mortalidad vs iluminación



Los tratamientos con iluminación natural presentaron menor mortalidad (nueve renacuajos muertos) que los tratamientos con iluminación artificial (13 larvas muertas).

Figura 8. Mortalidad vs dietas



Los tratamientos que presentaron mayor mortalidad fueron los de dieta carnívora con nueve muertes, seguida por tratamientos con la dieta herbívora con ocho muertes y cinco muertes en los de dieta omnívora.

Se observó durante este estudio que las variables de temperatura constante, iluminación natural y dieta omnívora fueron las que redujeron la mortalidad de las larvas, al igual que ocurre en el hábitat natural de esta especie ya que se ha observado a los renacuajos tomar baños de sol, frecuentar los estratos más calientes de los cuerpos de agua y tener una dieta omnívora (Arbeláez & Vega 2008).

Figura 9. Causas de mortalidad

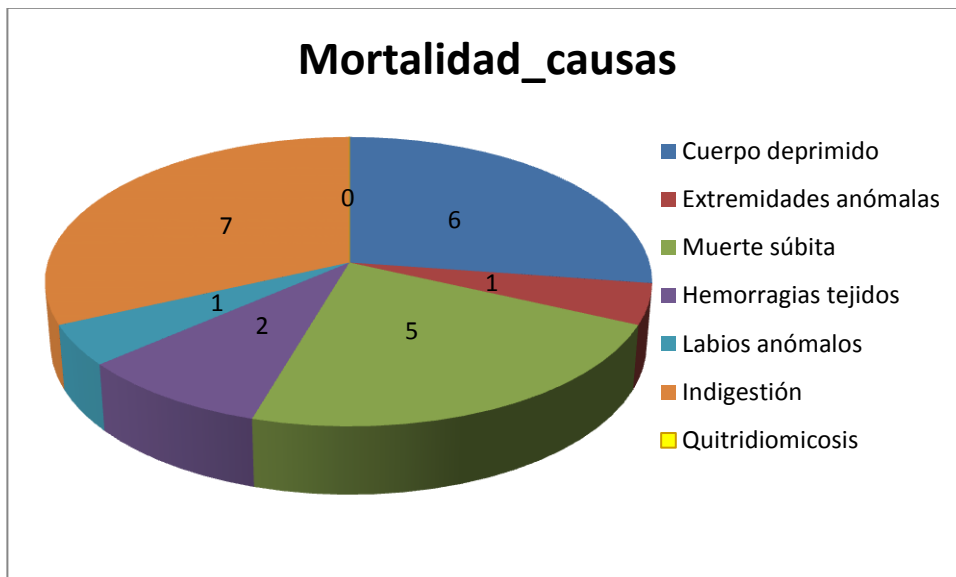
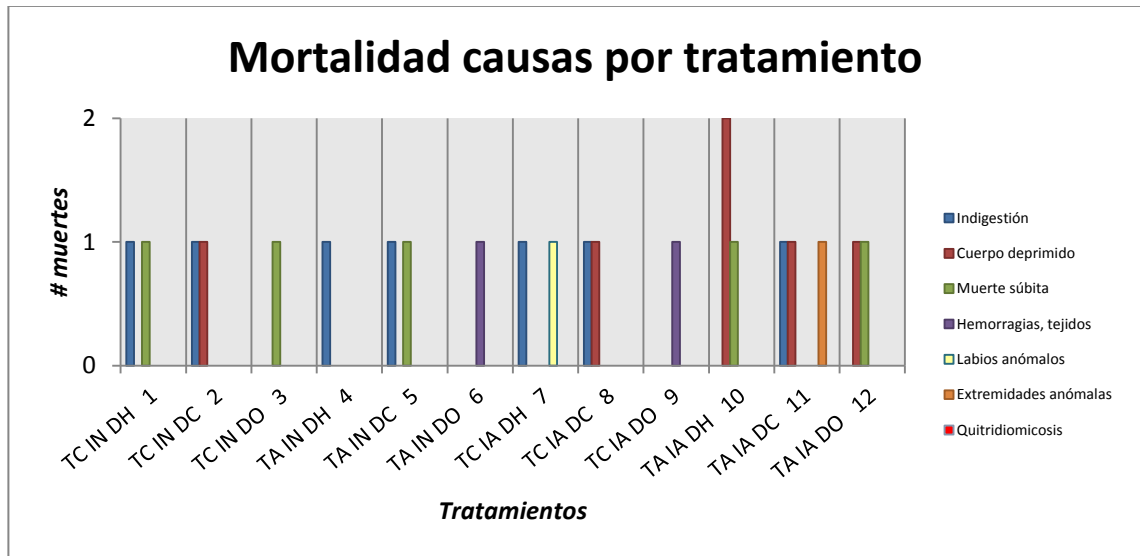


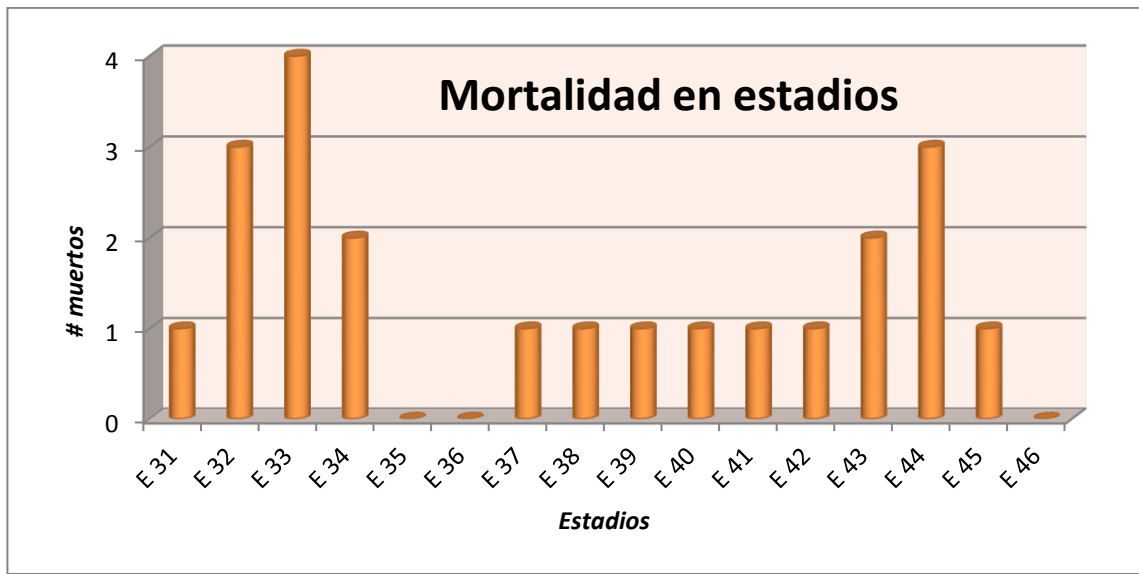
Figura 10. Mortalidad por tratamiento

Las causas de mortalidad más frecuentes fueron: indigestión con siete muertes, postura deprimida del cuerpo con seis muertes, muerte súbita con cinco muertes, problemas de circulación con cola sanguinolenta dos muertes y desarrollo anómalo de extremidades y labios con una muerte cada una. Los tratamientos 10 y 11 fueron los que presentaron mayor mortalidad con tres renacuajos muertos en cada tratamiento.

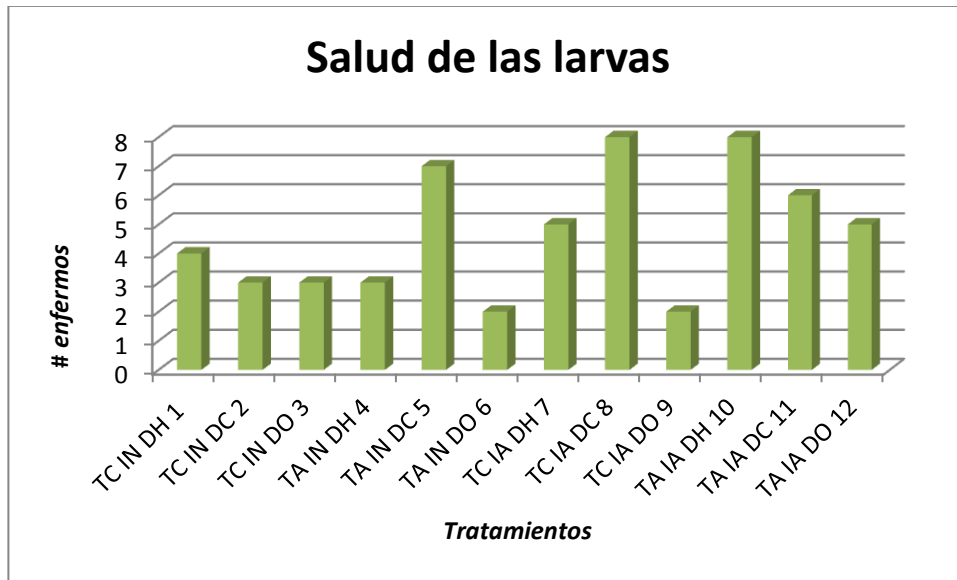
Los tratamientos tres, cuatro, seis y nueve registraron una sola muerte en cada uno. Se observó durante el estudio que los problemas de muerte por indigestión y problemas de circulación sanguínea con cola sanguinolenta estuvieron mayormente asociados a cambios drásticos de la temperatura del agua en tratamientos que manejaron a las larvas en aguas a temperatura ambiente las cuales por las noches disminuyeron a temperaturas mínimas entre 12-14°C y en estos días especiales es cuando ocurrieron con mayor frecuencia este tipo de muertes. También la indigestión estuvo mayormente asociada a larvas aparentemente débiles que ingirieron vorazmente las dietas carnívoras que al parecer les produjeron desbalances gastrointestinales. Las muertes por desarrollo anómalo de extremidades y boca al parecer están relacionadas con problemas

metabólicos propios de organismos débiles que no pueden realizar adecuadamente la metamorfosis (Pessier, A. & Mendelson J., 2010).

Figura 11. Mortalidad en estadios

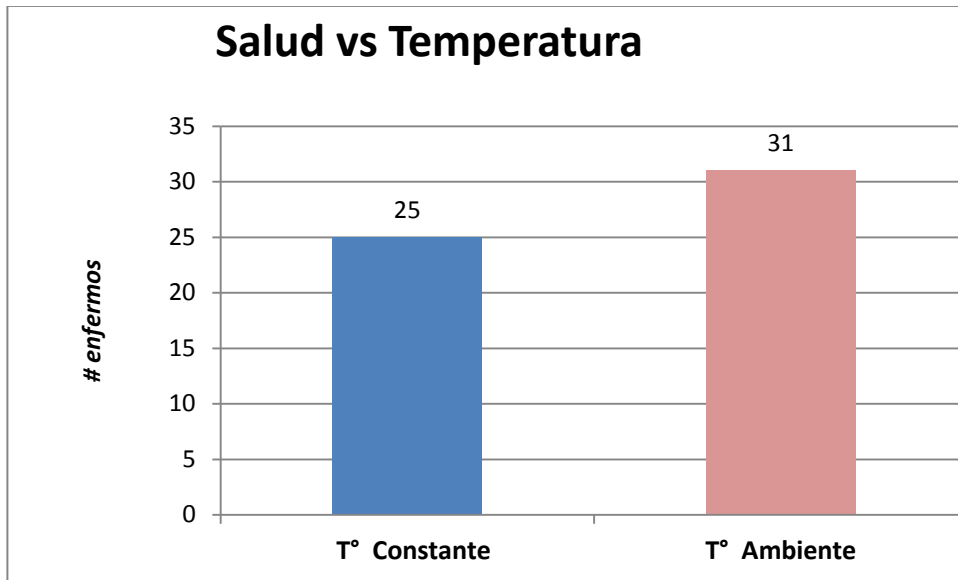


El estadio 33 fue el que presentó mayor número de muertes con cuatro individuos, seguido por el 32 y el 44 con tres muertes cada uno. Los estadios 35, 36 y 46 no registraron muertes. Los estadios iniciales y finales presentan mayor número de muertes, al parecer debido a que en estas etapas las larvas están sufriendo grandes cambios morfológicos y metabólicos, por ejemplo en los estadios iniciales 32, 33 y 34 las larvas están aprendiendo a sobrevivir fuera de la bolsa marsupial de la madre que les provee todo el cuidado necesario, además unos pocos estadios antes estas larvas han cambiado su modo de respiración branquial a pulmonar y estos órganos respiratorios están ajustándose. Mientras que en los estadios finales 43 y 44 de la metamorfosis los cambios estructurales rápidos que ocurren con la formación de extremidades, la adaptación de tejidos, órganos para independizarse del agua y la formación de larva a rana subadulta demandan de grandes inversiones de energía metabólica que seguramente afectan con enfermedades y muerte a ejemplares que están débiles.

Figura 12. Salud de las larvas

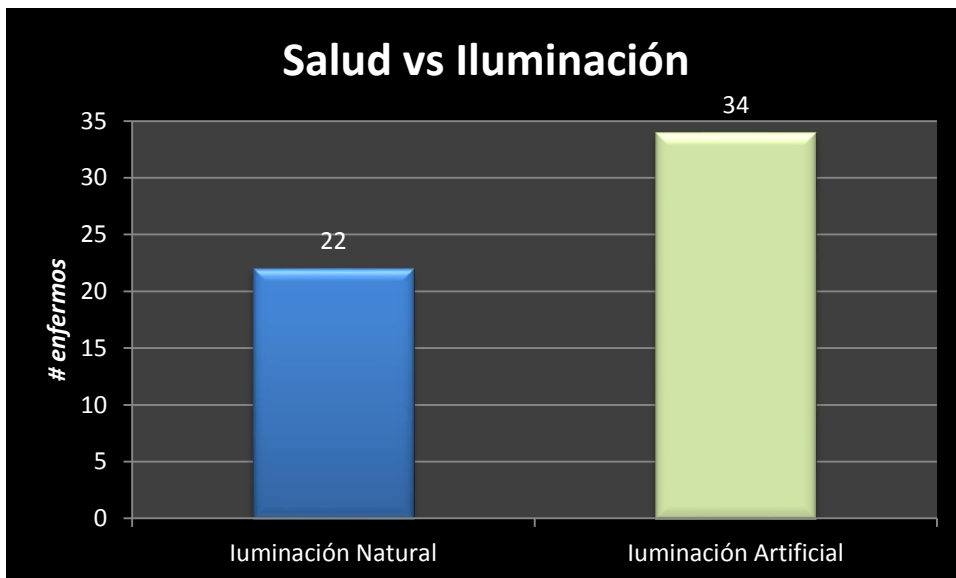
Durante la investigación se registró un total de 56 individuos enfermos, equivalentes a un 46.6% del total de la población estudiada. De estos 56 individuos enfermos, 22 murieron representando un 18% y 34 siguieron vivos, representando un 28% hasta finalizar el estudio. Los tratamientos ocho y diez registraron el mayor número de enfermos, ocho individuos cada uno y los tratamientos seis y nueve fueron los que registraron el menor número de individuos enfermos con una sola larva en cada uno. Se observó que los renacuajos relacionados con dietas completamente carnívoras o herbívoras fueron los que presentaron potenciales deficiencias de nutrientes en el organismo, manifestando problemas de salud o enfermedades, esto se comprueba con la mínima cantidad de larvas enfermas que presentaron los tratamientos que recibieron dietas omnívoras, los cuales posiblemente otorgan la cantidad balanceada y adecuada de nutrientes de origen vegetal y animal que necesitan para tener una adecuada salud.

Figura 13. Salud vs temperatura



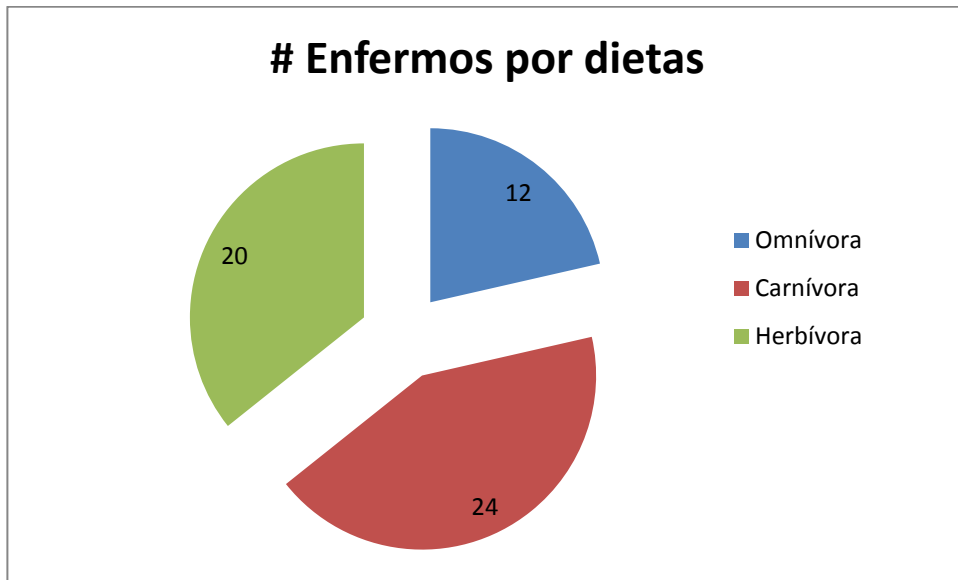
Los tratamientos que se realizaron con temperatura constante tuvieron menos enfermos que los que se realizaron con temperatura ambiente, 25 y 31 enfermos respectivamente.

Figura 14. Salud vs iluminación



En lo referente a la iluminación los individuos que se sometieron a iluminación natural registraron 22 individuos enfermos y los que recibieron iluminación artificial registraron 34 enfermos.

Figura 15. Salud vs dietas



Los tratamientos con dieta carnívora presentaron mayor número de larvas enfermas 24 renacuajos, seguido por los tratamientos con dieta herbívora con 20 larvas enfermas y los de dieta omnívora presentaron el menor número de enfermos con 12 individuos.

Los tratamientos que promueven mejor la salud fueron los que manejaron variables de temperatura constante y ambiente, iluminación natural y dieta omnívora.

Figura 16. Enfermedades registradas

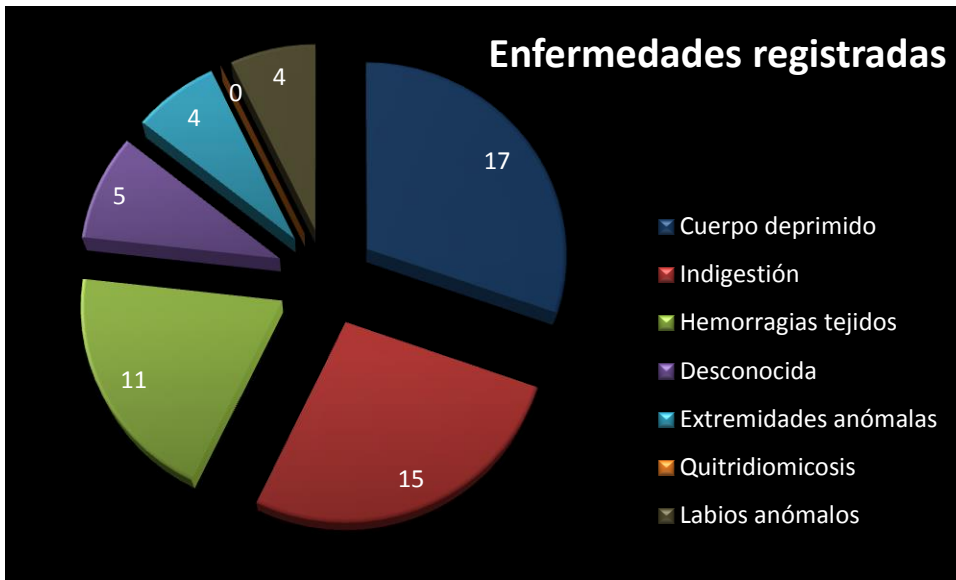
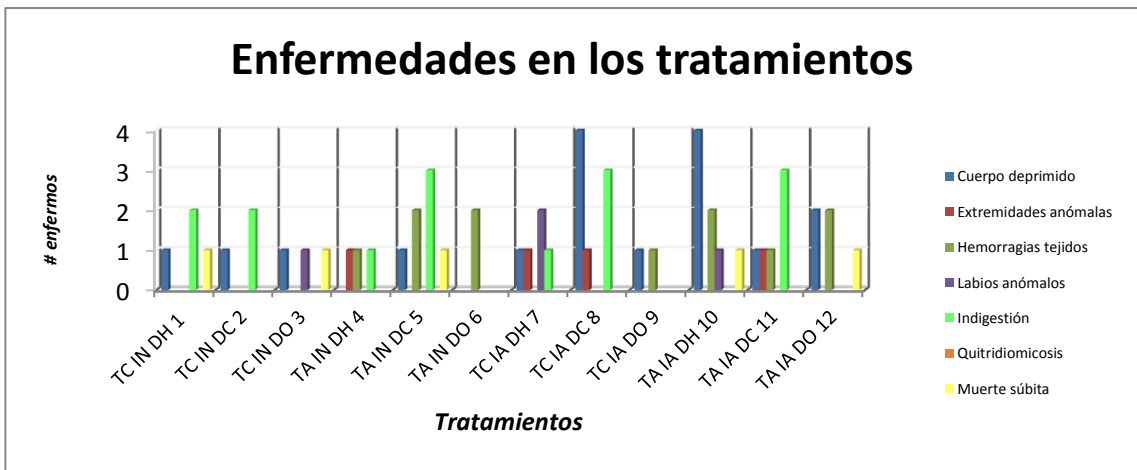


Figura 17. Enfermedades en los tratamientos

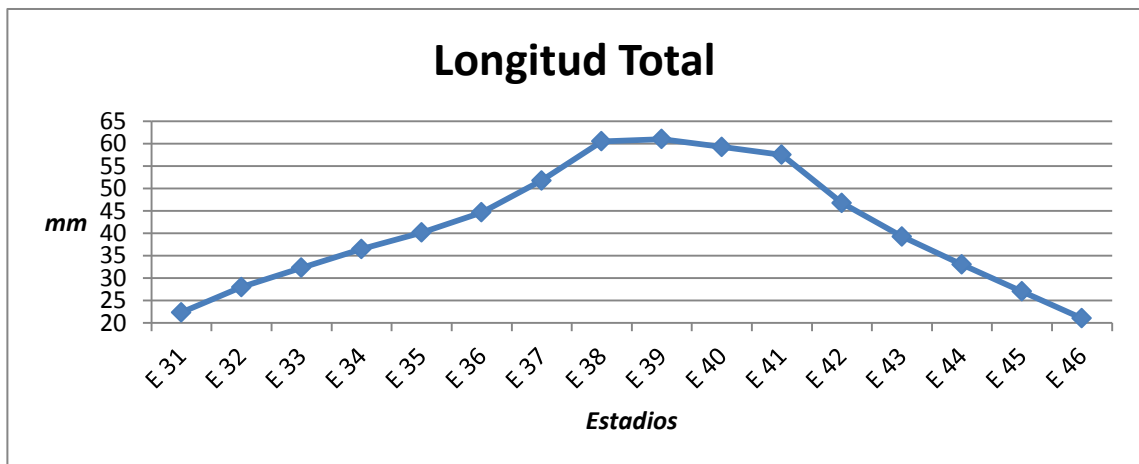


De los 56 individuos enfermos, 17 de ellos fueron por cuerpo deprimido, 15 por indigestión, 11 por hemorragias en los tejidos, 5 presentaron muerte súbita sin enfermedad aparente, cuatro presentaron extremidades anómalas y cuatro labios anómalos. Ningún individuo presentó quitridiomycosis. Al parecer las enfermedades se

asociaron a individuos que sufrieron problemas relacionados con desbalances metabólicos, nutricionales, descompensaciones por temperatura del agua y dietas. Se sospecha que los ejemplares de larvas que se enfermaron con síntomas de cuerpo deprimido (30% del total de enfermos) podrían presentar patologías respiratorias, de los riñones o cardíacos que fueron complicadas de diagnosticar. Los individuos muertos súbitamente (9% del total de enfermos) no demostraron causa definida, se intentó mediante necropsias determinar los motivos de muerte pero no se logró obtener evidencias, presumimos que podrían ser patologías relacionadas con virus que aniquilan rápidamente a las larvas sin presentar síntomas (Pessier, A. & Mendelson J. 2010).

Medidas y pesos

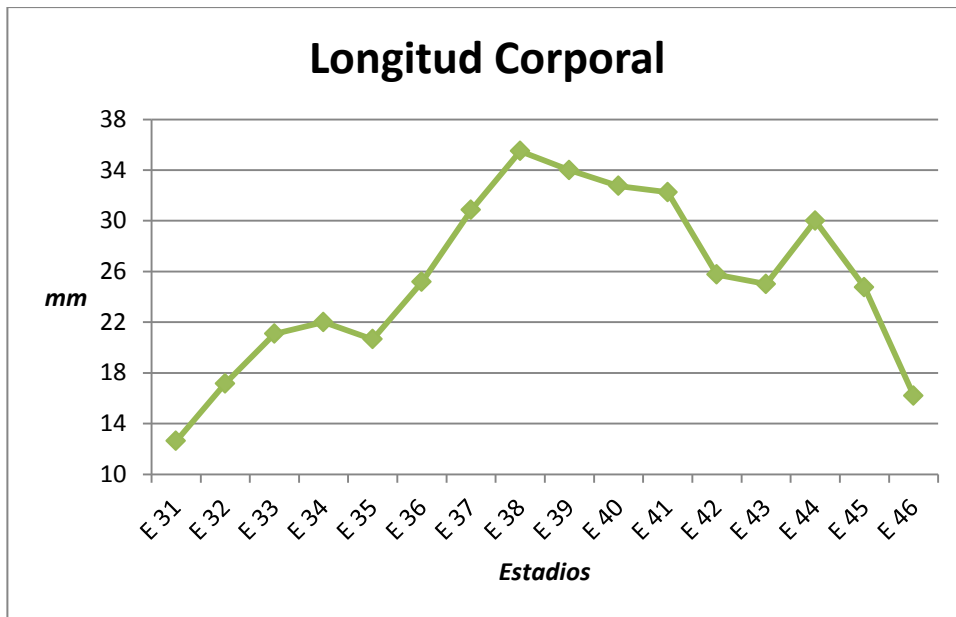
Figura 18. Longitud total por estadios



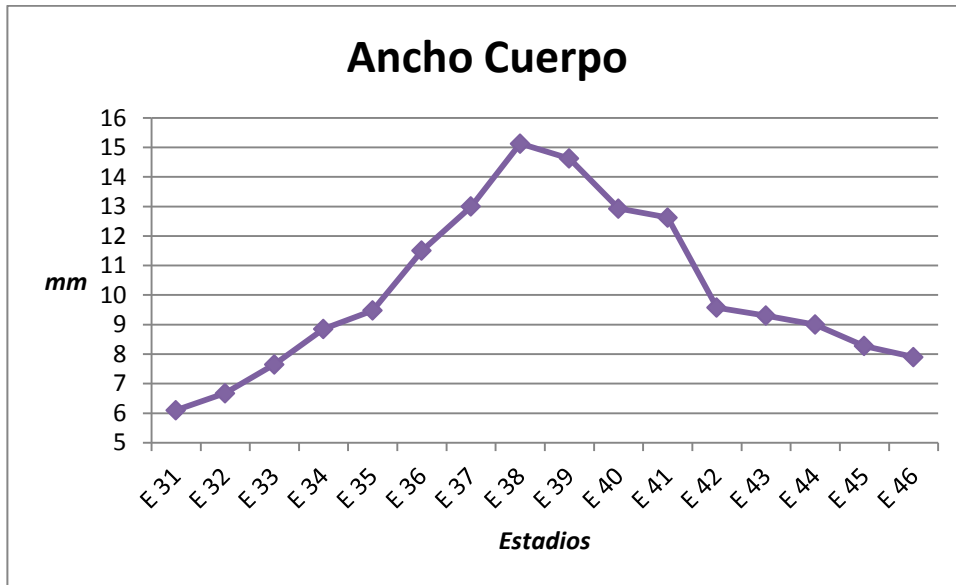
La longitud total del cuerpo de las larvas en este estudio tuvo una media de 22.33 (+/- 2.95) milímetros en el estadio inicial 31, se registró una longitud máxima del cuerpo de los renacuajos de este estudio con una media de 61 (2.58+/-) mm en el estadio 39, la cual decreció hasta alcanzar una media de 21 mm (2.24+/-) en el último estadio 46. Se observan en los resultados que las medias de crecimiento aumentan desde el estadio 31 hasta el estadio 40 con una tendencia de triplicar su longitud, entre los estadios 39 al 42

las medidas de longitud total del cuerpo se mantienen armónicas y varían en muy pocos milímetros. Entre los estadios 42 y 46 el crecimiento disminuye en una proporción de tres veces su tamaño, de esta forma al finalizar la metamorfosis en el estadio 46 estos anuros tienen casi la misma longitud que al comenzar el estadio 31 (Aubér-Thomay, M. 1986).

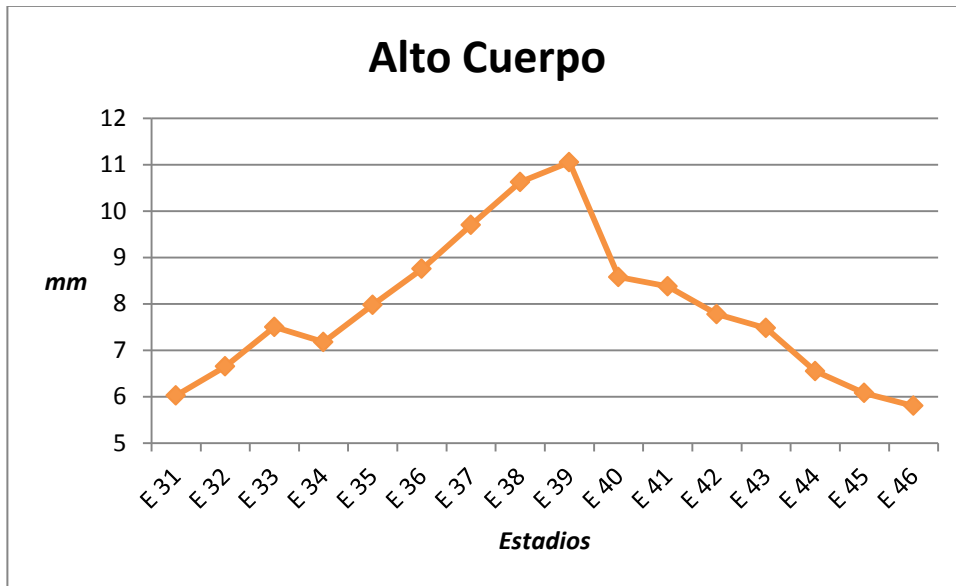
Figura 19. Longitud corporal por estadios



La longitud corporal de los renacuajos comienza con una media de 12.63 (+/-2.29) mm en el estadio 31, alcanzando una longitud máxima media de 35.50 (+/- 3.00) mm en el estadio 38 y terminando la metamorfosis con una media de 16.20 (+/-9.18) mm en el estadio 46.

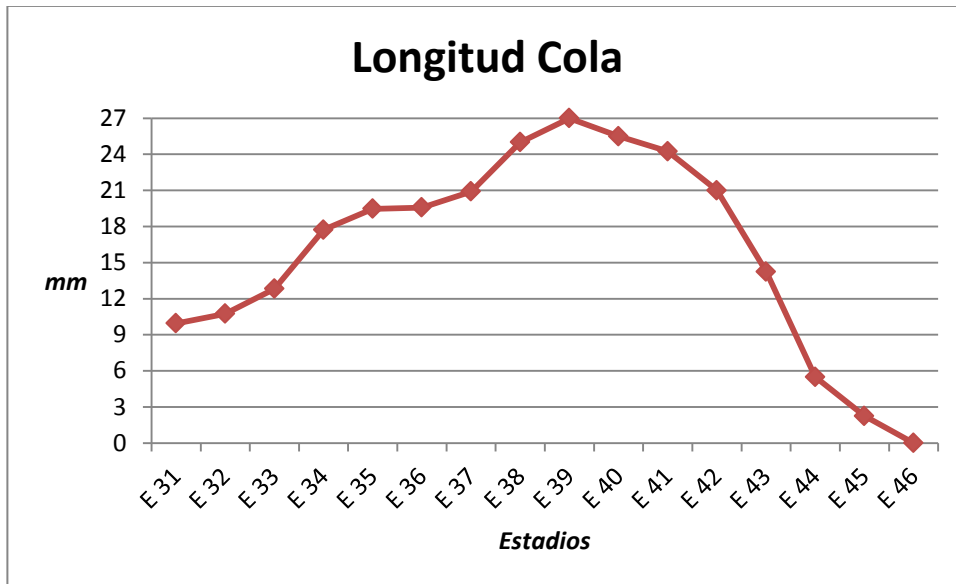
Figura 20. Ancho cuerpo por estadios

El ancho del cuerpo de los renacuajos comenzó con una media de 6.10 (+/- 0.29) mm en el estadio 31, alcanzando los 15.13 (+/- 0.85) mm en el estadio 38 y terminando la metamorfosis con una media de 7.90 (+/- 0.89) mm en el estadio 46.

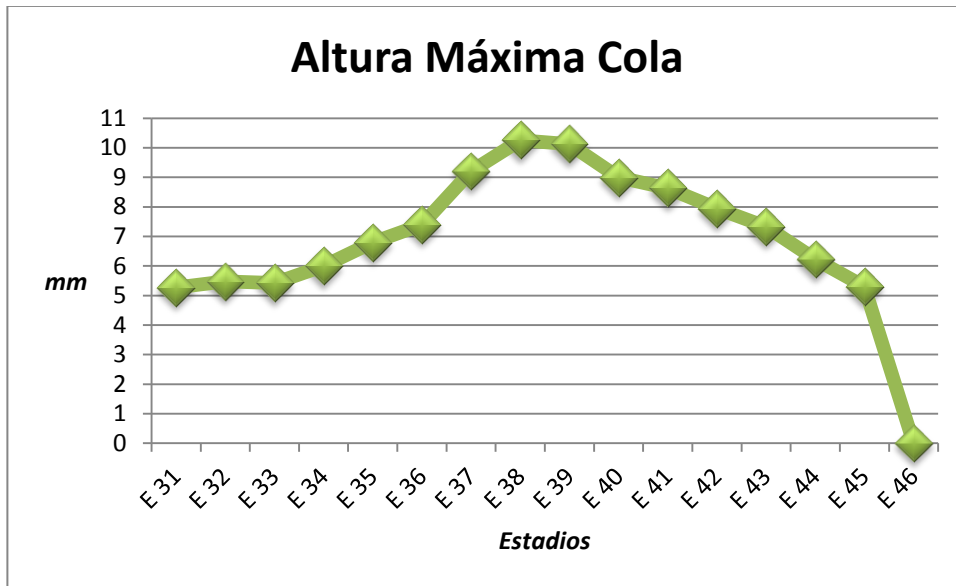
Figura 21. Alto cuerpo por estadios

El alto del cuerpo comenzó en estadio 31 con una media de 6.03 (+/- 0.34) mm, alcanzando a su punto más alto en el estadio 39 con una media de 11.05 (+/- 2.51) mm y terminando la metamorfosis con una media en la altura corporal de 5.80 (+/- 0.76) mm.

En este estudio se registró que la longitud corporal, alto y ancho del cuerpo tienen sus máximos tamaños en los estadios 38 y 39, después de estos estadios sus medidas corporales decrecen

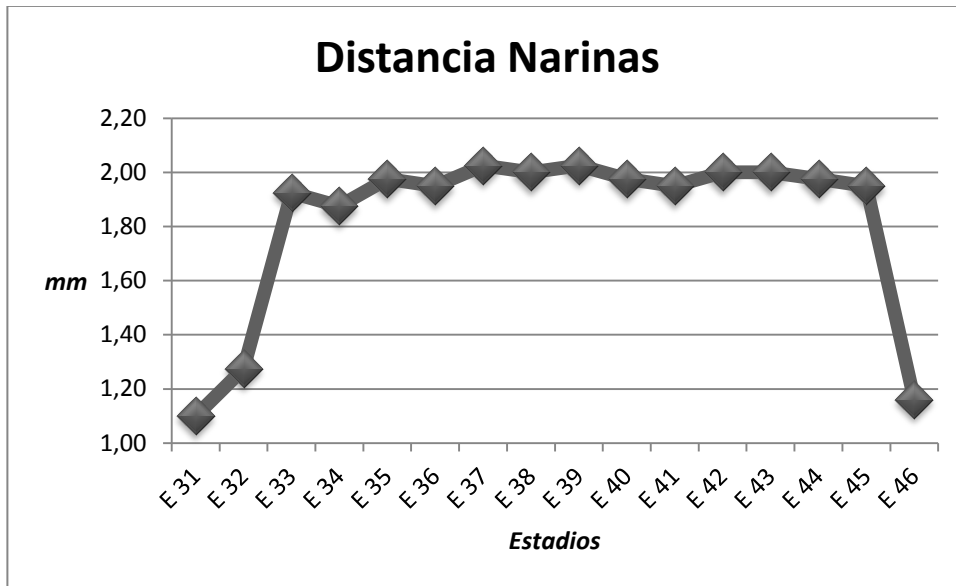
Figura 22. Longitud cola por estadios

La cola empezó con una longitud media de 9.95 (+/- 0.82) mm en el estadio 31, adquiriendo su tamaño máximo en el estadio 39 con una longitud media de 27 (+/- 0.82) mm, para luego bajar a cero (+/- 0.00) en el estadio 46.

Figura 23. Altura máxima cola por estadios

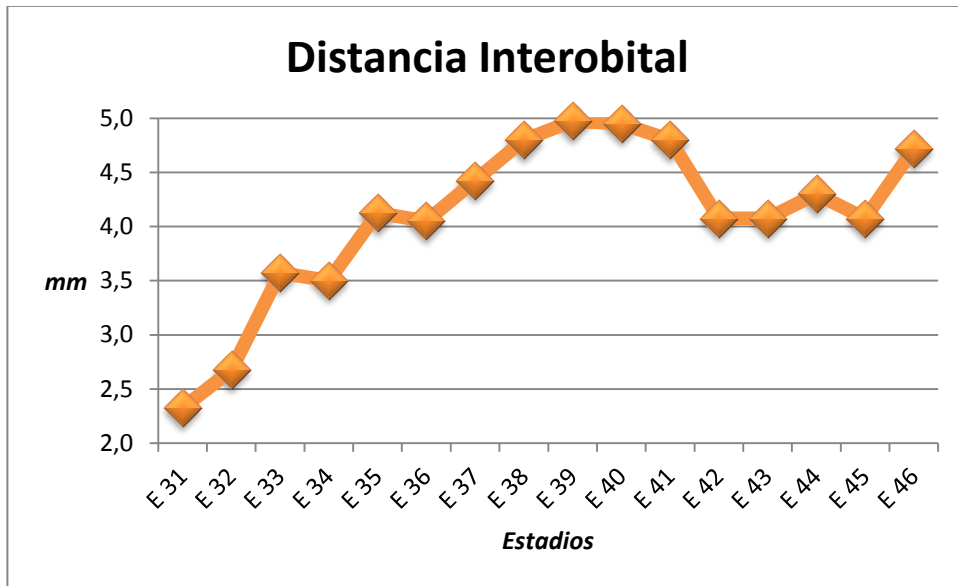
La altura máxima de la cola inició en el estadio 31 con 5.28 (+/-0.22) mm, alcanzando su altura máxima en el estadio 38 con 10.25 (+/- 0.65) mm y finalizando la metamorfosis en el estadio 46 con 0 (+/- 0.00) mm.

La cola decrece en longitud y altura desde el estadio 40 cuando en promedio mide 25.50 mm de longitud y 9 mm de altura hasta que esta se reabsorbe totalmente al finalizar el estadio 46.

Figura 24. Distancia narinas por estadios

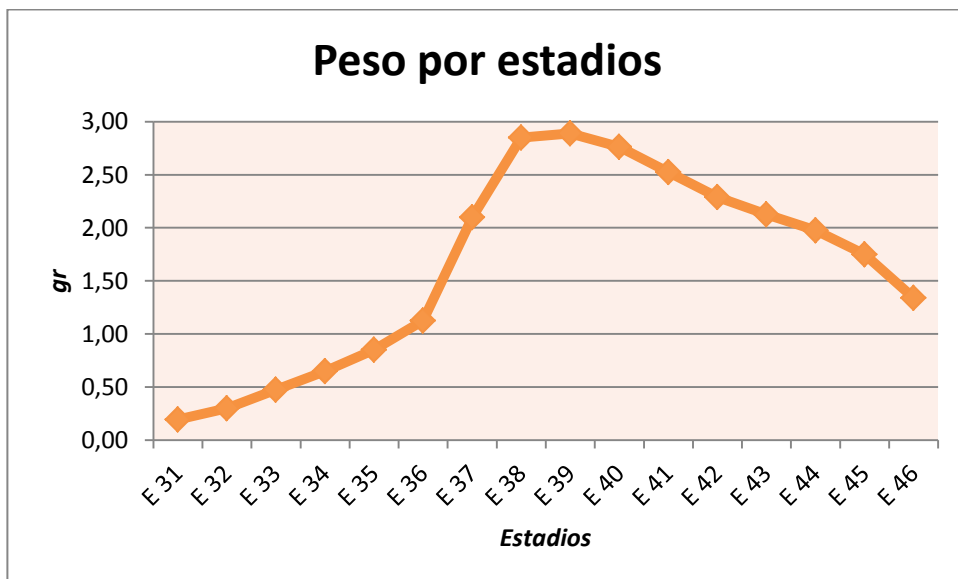
La distancia entre las narinas comenzó en el estadio 31 con 1.10 (+/- 0.12) mm, llegando a estabilizarse entre los estadios 33 y 45, con un promedio máximo de 2.03 (+/- 0.38 y 1.01) mm en el estadio 39. El estadio 46 finaliza con una distancia de las narinas de 1.16 (0.15) mm como media, se manifiesta en el desarrollo larval un proceso rápido de crecimiento de esta distancia de las narinas en los tres primeros estadios, decreciendo rápidamente en los dos últimos estadios.

Figura 25. Distancia interorbital por estadios



La distancia interorbital de las larvas comenzó en el estadio 31 con una media de 2.33 (+/- 0.24) mm, llegando a su distancia máxima en el estadio 39 con una media de 4.98 (+/- 0.21) mm, para el estadio 46, los metamorfos tuvieron una distancia interorbital promedio de 4.72 (+/- 0.50) mm, demostrando que esta medida morfométrica es la única que aumenta al finalizar la metamorfosis.

Figura 26. Peso por estadios



El peso de los renacuajos comenzó con un promedio de 0.20 (+/- 0.04) gr en el estadio 31, este aumenta aproximadamente 14 veces y llega a su peso máximo en el estadio 39 con una media de 2.89 (+/- 0.13) gr. Cuando finalizan la metamorfosis las larvas en estadio 46 presentan un anuro subadulto con un peso promedio de 1.34 (+/- 0.27) gr.

Tabla 3. Tabla de vida de *Gastrotheca litonedis*

X	Nx	dx	Qx	lx	Ex
0	120	0	0,000	1	0,00000
31	119	1	0,008333333	0,991666667	0,26050
32	116	3	0,02521008	0,966666667	0,27586
33	112	4	0,03448276	0,933333333	0,29464
34	110	2	0,01785714	0,916666667	0,30909
35	110	0	0	0,916666667	0,31818
36	110	0	0	0,916666667	0,32727
37	109	1	0,00909091	0,908333333	0,33945
38	108	1	0,00917431	0,90000	0,35185
39	107	1	0,00925926	0,891666667	0,36449
40	106	1	0,00934579	0,883333333	0,37736
41	105	1	0,00943396	0,87500	0,39048
42	104	1	0,00952381	0,866666667	0,40385
43	102	2	0,01923077	0,85000	0,42157
44	99	3	0,02941176	0,825000	0,44444
45	98	1	0,01010101	0,816666667	0,45918
46	98	0	0	0,816666667	0,46939

x = estadios

Nx = número de individuos

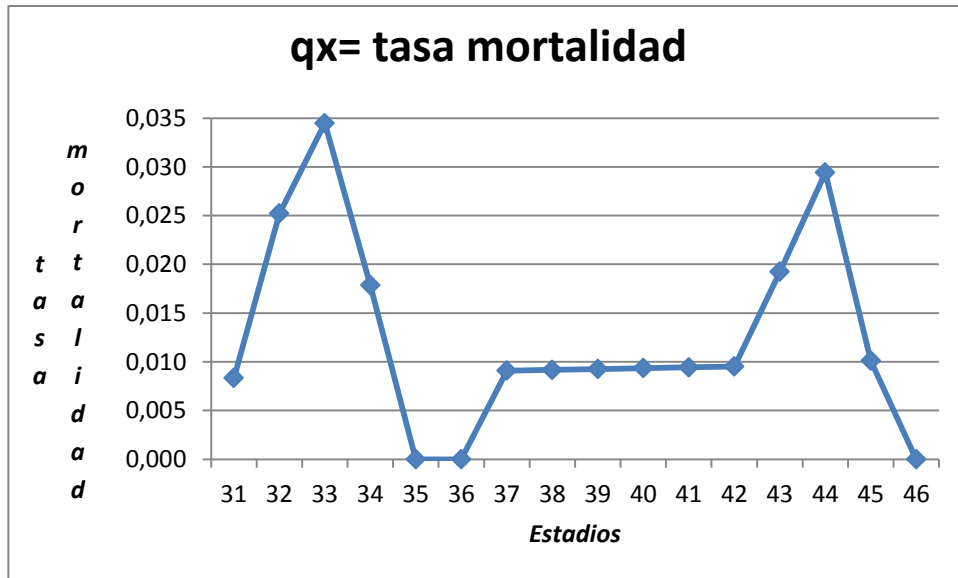
dx = número de individuos que mueren entre las edades x-1 y x

Q_x = es la probabilidad de morir entre las edades $x-1$ y x .

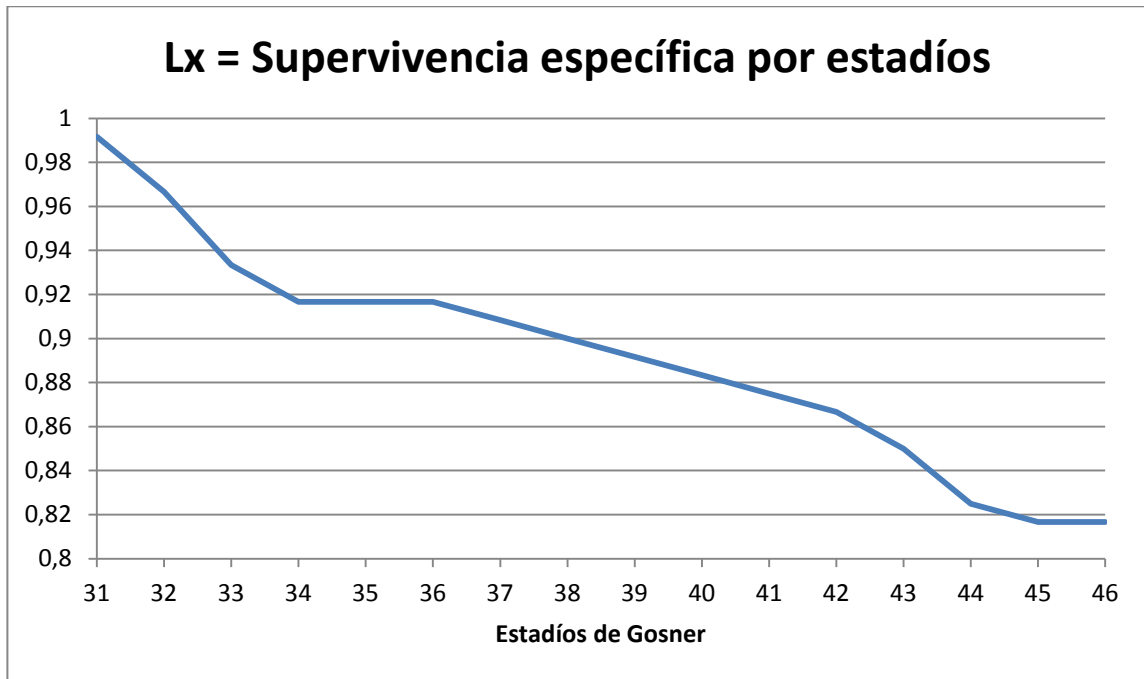
l_x = proporción de sobrevivientes a la edad x .

E_x = expectativa de vida, indica cuanto vivirá en promedio, un individuo de la edad x .

Figura 27. Tasa de mortalidad específica por estadios

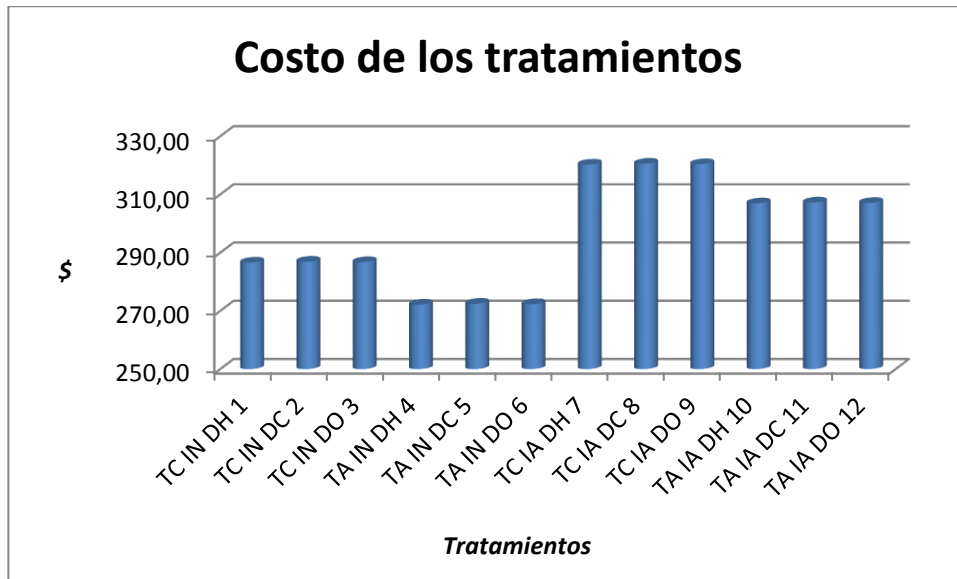


La tasa de mortalidad no presenta un patrón uniforme, el pico máximo de mortalidad se da en el estadio 33, disminuyendo a cero en los estadios 35 y 36, se mantiene constante en los hasta el estadio 42 cuando aumenta significativamente, para bajar nuevamente a cero en el estadio 46.

Figura 28. Supervivencia específica por estadios

Es conocida como L_x en ecología de poblaciones y nos permitió comprender como se comportan la tendencia de sobrevivencia de las larvas en los diferentes estadios, de esta forma tenemos los siguientes resultados:

En los primeros estadios del 31 al 34 la supervivencia específica es alta ya que sus valores están sobre el 91% y llegan hasta el 98%, teniendo una alta potencialidad de sobrevivir. El estadio 38 presenta un L_x de 89%, los siguientes estadios tienen la tendencia de disminuir hasta el estadio 44 que tiene un L_x de 82%. En los últimos estadios 44, 45 y 46 se demuestran que la supervivencia específica se estabiliza presentando un 81,5%, equivalente a que en estos estadios la sobrevivencia fue de 8 renacuajos por cada 10 individuos.

Figura 29. Análisis de costos de los tratamientos

Los tratamientos tuvieron diferentes costos, los que fueron sometidos a temperatura ambiente e iluminación natural fueron los más económicos, con un monto aproximado de \$280.00, mientras que los tratamientos que tuvieron temperatura constante e iluminación artificial fueron los más costosos, con un presupuesto operacional de alrededor de \$320.00 durante 210 días.

A continuación presentamos la tabla fotográfica de los 16 diferentes estadios Gosner documentados sistemáticamente durante todo el proceso completo de metamorfosis de *G. litonedis*. La tabla muestra para cada estadio una fotografía general de cuerpo entero de los renacuajos y una fotografía más pequeña ampliada con zoom del detalle de desarrollo de las extremidades posteriores. Para los últimos estadios en los que los renacuajos se transforman en ranas subadultas se incluyen dos fotos tomadas en diferentes ángulos de detallan la forma en que se desarrolla el cuerpo, su cabeza y el proceso de reabsorción de la cola de esta especie. También incluimos fotografías anexadas a este capítulo de los progenitores de estas larvas que fueron mantenidos en el centro de conservación de anfibios Amaru, con códigos AGL046-CCA / AGL018-CCA respectivamente para el macho y para la hembra adultos.

Figura 30. Tabla fotográfica de los estadios de Gosner de *Gastrotheca litonedis*

Tabla de estadios Gosner de *Gastrotheca litonedis*



Química del Agua pH, Amoníaco, Nitritos NH_3 y Nitratos NH_4 :

La calidad y pH del agua fue monitoreada cada semana en dos ocasiones, esta fue manejada estrictamente para mantener su óptimo estado y calidad, para esto se realizaron recambios parciales cada dos días del agua usada por los renacuajos. Los resultados de los valores del pH se mantuvieron entre 7 y 7,3 durante todo el estudio. Para el caso de los valores analizados de amoníaco, nitritos y nitratos tuvimos el resultado de cero (0) durante todo el estudio, esto significa que nuestras aguas estuvieron en óptimas condiciones. Suponemos que estos valores de la química del agua también no variaron debido a que fue de gran ayuda usar durante todo el estudio agua que previamente mantuvimos reposada y desclorinificada que provino directamente de la matriz de agua potable distribuida directamente desde las plantas de potabilización de la ciudad de Cuenca, estas aguas son tratadas adecuadamente bajo altos estándares de calidad.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Esta investigación fue el primer estudio sistemático que se desarrolló sobre el desarrollo larval de *Gastrotheca litonedis* manejada en condiciones de cautiverio. El estudio manejó un total de 120 renacuajos de la misma edad, comenzando todos en el estadio 31, las larvas fueron crías de la misma madre. Recomendamos realizar un siguiente estudio bajo la misma dinámica pero con renacuajos que provengan de progenitores distintos.
- El tratamiento número tres (TC-IN-DO) que manejó temperatura del agua temperada constante, iluminación natural y dieta omnívora es el mejor desde todos los puntos de vista, por ejemplo en el aspecto económico es uno de los que menor inversión demandó, además este tratamiento generó un desarrollo larvario en un período de tiempo óptimo, presento bajos niveles de enfermedades y mortalidad en las larvas.
- El costo promedio de los tratamientos fue de \$296,64 (+/-19.29). El tratamiento más costoso fue el ocho (TC-IA-DC) \$320.57 y el menos costoso el cuatro (TA-IN-DH) \$272.15. Los tratamientos cuatro, cinco y seis (TA-IN-DC,DH,DO) fueron los tratamientos más económicos, generaron un ahorro de aproximadamente 50 dólares comparándolos con los tratamientos más costosos (TC-IA-DC-DH-DO). Recomendamos usar este tipo de tratamientos para proyectos con esta especie que busquen manejar grandes poblaciones ya que sin duda promoverán un ahorro a nivel económico.
- Los renacuajos que fueron sometidos a tratamientos en los cuales se manejó temperatura constante del agua y dieta carnívora se desarrollaron en promedio

tres veces más rápido que los que fueron sometidos a tratamientos que manejaron temperaturas de agua al ambiente y dietas Herbívoras. La variable temperatura es determinante en la rapidez del desarrollo de las larvas. A menor temperatura las larvas crecen lentamente y a mayor temperatura las larvas aceleran hasta tres veces su desarrollo si comparamos el tiempo que dura la metamorfosis en los tratamientos más demorados.

- Al parecer la variable de iluminación no influye directamente en la rapidez de desarrollo de las larvas, pero si promueve el crecimiento saludable de los renacuajos. Tratamientos que contaron con iluminación natural presentaron larvas más saludables y existieron menores niveles de enfermedad y mortalidad.
- Los tratamientos que proporcionaron dietas omnívoras fueron los que presentaron los mejores niveles de salud y los niveles más bajos de mortalidad de renacuajos de *G. litonedis*. Recomendamos que no se usen tratamientos que manejen a esta especie que otorguen únicamente dietas carnívoras o vegetarianas, ya que la mortalidad y generación de enfermedades de las larvas aumenta sobre todo con dietas basadas solamente en proteína animal.
- Existe un patrón marcado de tendencia de las variables de temperatura constante, dieta omnívora e iluminación natural que promueven la disminución de la mortalidad y propagación de enfermedades en los renacuajos de *G. litonedis*.
- Los estadios iniciales 32, 33 y los finales 44 y 45 presentaron mayores niveles de mortalidad de las larvas. La mayor causa de muerte en la población de renacuajos de *G. litonedis* manejada en esta investigación fue la de indigestión que está asociada a problemas gastrointestinales y problemas de asimilación

metabólica. Los tratamientos que presentaron mayores niveles de mortalidad fueron el 10 y el 11, ambos manejaron variables de temperatura del agua al ambiente, iluminación artificial que no es recomendada y dietas exclusivamente herbívoras y carnívoras respectivamente. Además estos tratamientos 10 y 11 presentaron costos económicos mayores que otros tratamientos y el período de desarrollo de las larvas fue largo, con una media tres veces mayor que la media de tiempo de desarrollo del mejor tratamiento en tiempo de desarrollo, por tanto no recomendamos usar estos tratamientos. Este estudio no presentó especímenes que murieron por la patología denominada quitridiomycosis, para prevenir esto usamos crías de especímenes sanos que fueron manejados en cautiverio.

- La enfermedad más común fue postura deprimida del cuerpo de las larvas. Esta enfermedad no presentó causas evidentes a pesar de que se realizaron algunos análisis minuciosos de los cadáveres que sufrieron esta patología, por tanto recomendamos que se realicen mejores investigaciones a nivel veterinario con mayor profundidad sobre este tipo de problemas relacionados con la salud de estos anfibios.
- En cuanto a la morfología, se concluye que los estadios 38 y 39 son los que mayores longitudes corporales y peso presentaron. Por tanto en estos estadios es cuando los renacuajos son más grandes en todo el proceso de metamorfosis. El peso de los renacuajos se incrementó 14 veces desde el estadio 31 al 38. Y desde el 38 al 46 las larvas pierden aproximadamente el 50% del peso corporal.
- Se desarrolló una tabla fotográfica de todos los estadios que sufren las larvas de *G. litonedis* desde el inicio hasta el final de la metamorfosis, recomendamos en potenciales nuevas investigaciones con esta especie y otras ranas marsupiales del

mismo género realizar la misma tabla para poder analizar patrones de desarrollo a nivel fotográfico.

REFERENCIAS

Glosario

Albergar: encerrar, contener.

Amoníaco: gas incoloro, de olor irritante, soluble en agua, compuesto de un átomo de nitrógeno y tres de hidrógeno.

Anfibio: se dice del animal que puede vivir indistintamente en tierra o sumergido en el agua, y, por ext., de los que, como la rana y los sapos, han vivido en el agua cuando jóvenes por tener branquias, y en tierra cuando adultos, al perder dichos órganos adquiriendo pulmones.

Anómalo: irregular, extraño.

Antrópicas: lo relativo al hombre entendido como especie humana. Se utiliza sobre todo en contextos científicos.

Bosque intermontano: se encuentra en laderas montañosas que bajan desde el filo del páramo hacia los bosques andinos y templados, entre los 2000 y 3500 m s.n.m.

Branquias: órgano respiratorio de muchos animales acuáticos, como peces, moluscos, cangrejos, gusanos, renacuajos, etc., constituido por láminas o filamentos de origen tegumentario, que pueden ser internas o externas.

Calibrador: instrumento utilizado para medir.

Carbohidratos: cada una de las sustancias orgánicas formadas por carbono, hidrógeno y oxígeno, que contienen los dos últimos elementos en la misma proporción que la existente en el agua; p. ej., la glucosa, el almidón y la celulosa.

Cautiverio: actividad del hombre que involucra el manejo de animales pertenecientes a especies no domésticas, bajo condiciones de cautiverio o semi-cautiverio, con la finalidad de que a través del mantenimiento, crecimiento o reproducción de los

individuos se atiendan demandas humanas o necesidades de la ciencia y de la conservación.

Chaparro: vegetación de poca altura.

Congregar: juntar, reunir.

Conservación ex situ: se entiende por la conservación de componentes de la diversidad biológica fuera de sus hábitats naturales.

Cuerpo deprimido: afección en la que los renacuajos presentaron una postura anormal del cuerpo.

Declinación: decaer, menguar, ir perdiendo en salud, inteligencia, riqueza, lozanía, etc.

Deforestación: despojar un terreno de plantas forestales.

Degradación: reducir o desgastar las cualidades inherentes a alguien o algo.

Depredador: animal que captura presas para alimentarse de la misma.

Depredar: cazar a otros de distinta especie para su subsistencia.

Desecado: extraer la humedad de algo.

Desechable: destinado a ser usado solo una vez, como una jeringuilla, un pañal, etc.

Discos digitales: membranas redondeadas que forman parte de los dedos de las ranas.

Distribución: reparto de algo entre varios según un criterio.

Dorsolateral: parte del cuerpo utilizada para nombrar la zona de los lados de la espalda.

Ecosistema: complejo dinámico de comunidades vegetales, animales y de microorganismos y su medio no viviente que se entiende la conservación de componentes de la diversidad biológica fuera de sus hábitats naturales.

Embrión: ser vivo en las primeras etapas de su desarrollo, desde la fecundación hasta que el organismo adquiere las características morfológicas de la especie.

Especie: cada uno de los grupos en que se dividen los géneros y que se componen de individuos que, además de los caracteres genéricos, tienen en común otros caracteres por los cuales se asemejan entre sí y se distinguen de los de las demás especies.

Especie endémica: aquella que se distribuye en un ámbito geográfico reducido y que no se encuentra de forma natural en otras partes del mundo. El endemismo, por lo tanto, refiere a una especie que sólo puede encontrarse naturalmente en un lugar.

Especie exótica: se refiere a las especies introducidas fuera de su área de distribución natural en el pasado o actual; incluye cualquier parte, gametos, semillas, huevos o propágulos de dichas especies que podrían llegar a sobrevivir y reproducirse.

Especie invasora: son animales, plantas u otros organismos, generalmente transportados e introducidos por el ser humano en lugares fuera de su área de distribución natural y que han conseguido establecerse y dispersarse en la nueva región, donde resultan dañinos.

Estadios: se llama estadio a cada etapa en el desarrollo de los anfibios y artrópodos, como insectos, crustáceos, etc., hasta llegar a la madurez sexual.

Estéril: libre de gérmenes patógenos.

Estribación: estribo o ramal de montaña que deriva de una cordillera.

Fecundar: unir la célula reproductora masculina a la femenina para dar origen a un nuevo ser.

Fragmentación: aparición de discontinuidades en el medio ambiente de un organismo. Puede ser causada por procesos geológicos que lentamente alteran la configuración del medio ambiente físico, o por actividades humanas, lo cual puede alterar el medio ambiente de una forma mucho más rápida en la escala de tiempo. Se considera que los procesos geológicos sean una de las principales causas de especiación (fundamentalmente la especiación alopátrica), mientras que las actividades humanas estarían implicadas en la extinción de muchas especies.

Gastrointestinales: perteneciente o relativo al estómago y a los intestinos.

Hábitat: ambiente que ocupa una población biológica. Es el espacio que reúne las condiciones adecuadas para que la especie pueda residir y reproducirse, perpetuando su presencia.

Holotipo: espécimen u otro elemento usado por el autor o designado por él como el tipo nomenclatural; mientras que el holotipo existe regula automáticamente la aplicación del nombre correspondiente.

Indigestión: trastorno que padece el organismo por no haber digerido bien los alimentos.

Invertebrados: se dice de los animales que no tienen columna vertebral.

Larva: animal en estado de desarrollo, cuando ha abandonado las cubiertas del huevo y es capaz de nutrirse por sí mismo, pero aún no ha adquirido la forma y la organización propia de los adultos de su especie.

Lissamphibia: también conocidos como anfibios modernos, son un clado de tetrápodos que, como el nombre común lo indica, incluye a todos los anfibios actuales, los cuales están representados por más de 6.000 especies.

Lista roja: creada en 1963, es el inventario más completo del estado de conservación de especies de animales y plantas a nivel mundial.

Marsupio: bolsa característica de las hembras de los marsupiales, que funciona a modo de cámara incubadora. Está formada por una duplicación de la piel y asentada sobre la pared ventral exterior. En ella se encuentran las glándulas mamarias y allí completan las crías el período de gestación.

Membranas: capa de naturaleza fundamentalmente colágena que se encuentra en la base de los epitelios y funciona como soporte y filtro fisiológico.

Metabolismo: conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o degradar aquellas para obtener estas.

Monitoreo: estimación periódica y estandarizada de la riqueza y/o abundancia de una o más poblaciones de animales a lo largo de un período de tiempo con el objetivo de observar la dinámica de cambios o tendencias, sean estos naturales o asociados a actividades antrópicas.

Morfométrica: es un método que se utiliza en varias disciplinas, basado en la forma de ciertas cosas. De acuerdo a la forma y medidas de los objetos se pueden clasificar o identificar. Un ejemplo de ello es en los animales: con las medidas de estos se puede identificar la especie o conocer el grado de desarrollo de sus órganos reproductores, entre otras cosas.

Narinas: cada uno de los orificios nasales externos.

Necropsia: examen de un cadáver.

Nitratos: sal formada por la combinación del ácido nítrico con una base.

Nitritos: sal formada por la combinación del ácido nitroso con una base.

Patologías: conjunto de síntomas de una enfermedad.

Peligro de extinción: cuando todos los miembros vivos de dicho taxón están en peligro de desaparecer.

Periferia: se entiende que la periferia es la región que está en los alrededores de un cierto centro.

pH: índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución. Entre 0 y 7 la disolución es ácida, y de 7 a 14, básica.

Post metamorfos: estado posterior a la metamorfosis en los anfibios.

Prioridad: anterioridad en orden o en el tiempo de una cosa respecto de otra.

Quitridomicosis: enfermedad producida por un hongo patógeno, capaz de eliminar anfibios en gran número.

Ranas marsupiales: en estas ranas, el desarrollo de los huevos no se produce en el agua sino en la espalda de la madre, dentro de una bolsa de piel especial. Los embriones se desarrollan en la espalda de la madre y cuando están listos, son depositados en un cuerpo de agua para continuar con su desarrollo. Marsupial ya que son parecidos al marsupio de los mamíferos.

Rango: amplitud de la variación de un fenómeno entre un mínimo y un máximo claramente especificados.

Reabsorción: desaparición de un exudado de la parte en que se había producido.

Recambios: sustitución de una cosa por otra con la misma función.

Renacuajos: larva de cualquier anfibio, que tiene cola, carece de patas y respira por branquias.

Salientia: clado de anfibios que incluye a las ranas modernas (Anura) y a todas las formas fósiles relacionadas.

Subadulto: estado de una rana antes de convertirse en adulto.

Súbito: imprevisto, repentino.

Técnica de sifón: técnica utilizada para limpiar el fondo de los acuarios por medio de una manguera que aspira los desechos.

Termostato: aparato que se conecta a una fuente de calor y que se utiliza para mantener constante la temperatura.

Turbio: mezclado o alterado con algo que oscurece o quita la claridad y transparencia que le son propias.

Variable: característica que es medida en diferentes individuos, y que es susceptible de adoptar diferentes valores.

Vertebrado: se dice de los animales cordados que tienen esqueleto con columna vertebral y cráneo, y sistema nervioso central constituido por médula espinal y encéfalo.

Bibliografía

- **ALMENDÁRIZ, A. ORCÉS, G.** Distribución de algunas especies de la herpetofauna de los pisos Altoandino, Templado y Subtropical. Ecuador. Revista Politécnica. 2004. 25:97 – 149 p.
- **AMPHIBIAN ARK.** La crisis. 2013. <http://www.amphibianark.org/the-crisis/?lang=es> [consulta del 17 febrero 2013].
- **ARBELÁEZ, E. VEGA, A.** Guía de Anfibios, Reptiles y Peces del Parque Nacional Cajas. Cuenca, Ecuador. Corporación Municipal Parque Nacional Cajas, ETAPA. 2008. 162 p.
- **AUBÉR-THOMAY, M.** Biologie d'une rainette marsupiale (*Gastrotheca riobambae*). France. SFRS Service du Film de Recherche Scientifique. 1986.
- **AUBÉR-THOMAY, M. Y LETELLIER, F.** Observations sur le développement de la rainette marsupiale, *Gastrotheca riobambae* (Hylidés). Revue Francaise de Aquariologie. 1986. 13:79-86 p.
- **BOONMAN, J.** *Gastrotheca riobambae*, de buidekikker in het terrarium. Alemania. Lacerta. 1985. 43:189-204 p.
- **CENTRO JAMBATU.** Anfibios Ecuador. <http://www.anfibioswebecuador.ec/> [consulta del 25 febrero 2013].
- **COLOMA, L. FRENKEL, C. y FÉLIX-NOVOA, C.** *Gastrotheca litonedis*. <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1129> [consulta del 27 febrero 2013].
- **COLOMA, L. A., GUAYASAMIN, J. M. y MENÉNDEZ-GUERRERO, P.** (eds). Lista Roja de Anfibios de Ecuador. <http://www.anfibioswebecuador.ec/listaroja.aspx>. [consulta del 27 febrero 2013].
- **DEL PINO, E. Y ESCOBAR, B.** Embryonic stages of *Gastrotheca riobambae* (Fowler) during maternal incubation and comparison of development with that of other egg-brooding hylid frogs. Journal of Morphology. 1981. 167:277-295 p.

- **DUELLMAN, W. E., D. M. HILLIS.** *Marsupial frogs (Anura: Hylidae: Gastrotheca) of the Ecuadorian Andes: Resolution of taxonomic problems and phylogenetic relationships.* Herpetologica. 1987. 43: 141-173 p.
- **FITZGERALD, K. T., GUILLETE JR., L. J. y DUVAL, D.** Notes on birth, development and care of *Gastrotheca riobambae* tadpoles in the laboratory. (Amphibia, Anura, Hylidae). *Journal of herpetology.* 1979. 13:457-460 p.
- **FRENKEL, C., VALLEJO, A., FÉLIX-NOVOA, C. y RON, S. R.**
GASTROTHECA **RIOBAMBAE.**
<http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1136> [consulta julio 22, 2013].
- **FROST, DARREL R.** *Amphibian Species of the World: an Online Reference.* <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. [consulta julio 26, 2012].
- **GOSNER, K. L.** A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica.* 1960. 16:183-190.
- **HOOGMOED, M. S.** Mating and early development of *Gastrotheca marsupiata* (Dumeril and Bibron) in captivity (Hylidae, Anura, Amphibia). *British Journal of Herpetology.* 1967. 4:1-7 p.
- **LUIS A. COLOMA, SANTIAGO RON, MANUEL MORALES.** *Gastrotheca litonedis.* www.iucnredlist.org. [consulta 18 enero 2012].
- **MYERS, P., R. ESPINOSA, C. S. PARR, T. JONES, G. S. HAMMOND, AND T. A. DEWEY.** *The Animal Diversity.* <http://animaldiversity.org>. [consulta 25 enero 2012].
- **PESSIER, A.P. AND J.R. MENDELSON (EDS.).** *A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs.* IUCN SSC Conservation Breeding Specialist Group: Apple Valley, MN. 2010.
- **RON, S. R., GUAYASAMIN, J. M., YANEZ-MUÑOZ, M. H. Y MERINO-VITERI, A.** <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador> [consulta 13 de abril, 2012].

- **SIAVICHAY, F. ALVARADO, D. ARBELÁEZ, E.** Informe anual de avances en el área de manejo y reproducción de anfibios del Centro de Conservación de Anfibios – Amaru, entregado al departamento de anfibios del Parque Zoológico de Filadelfia. Cuenca, Ecuador. 2013. 40 p.
- **UNEP-WCMC.** Species Database: CITES-Listed Species World Wide. http://www.unepwcmcapps.org/isdb/CITES/Taxonomy/country_list.cfm/isdb/CITES/Taxonomy/country_list.cfm?displaylanguage=esp&Country=EC [consulta 26 marzo 2012].

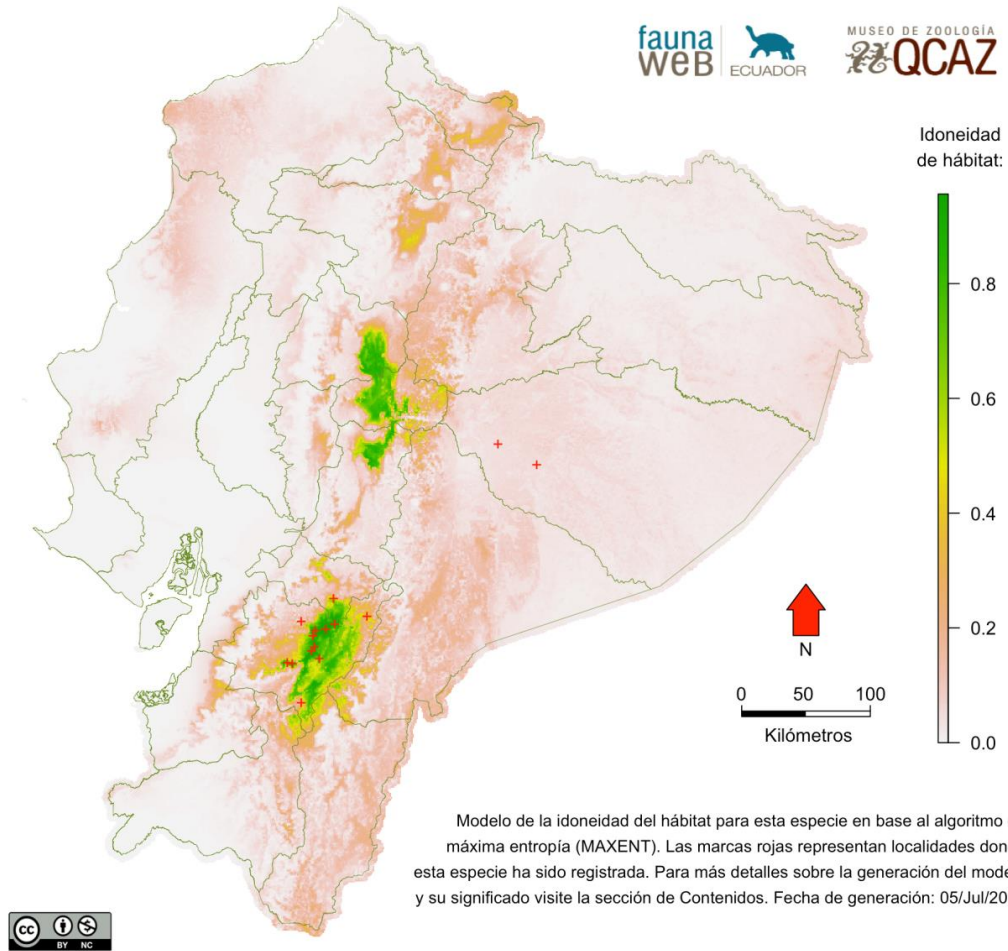
Anexos

Anexo 1: Holotipo de *Gastrotheca litonedis*



Anexo 2: Mapa de distribución potencial de *Gastrotheca litonedis*

Mapa de distribución potencial de *Gastrotheca litonedis*



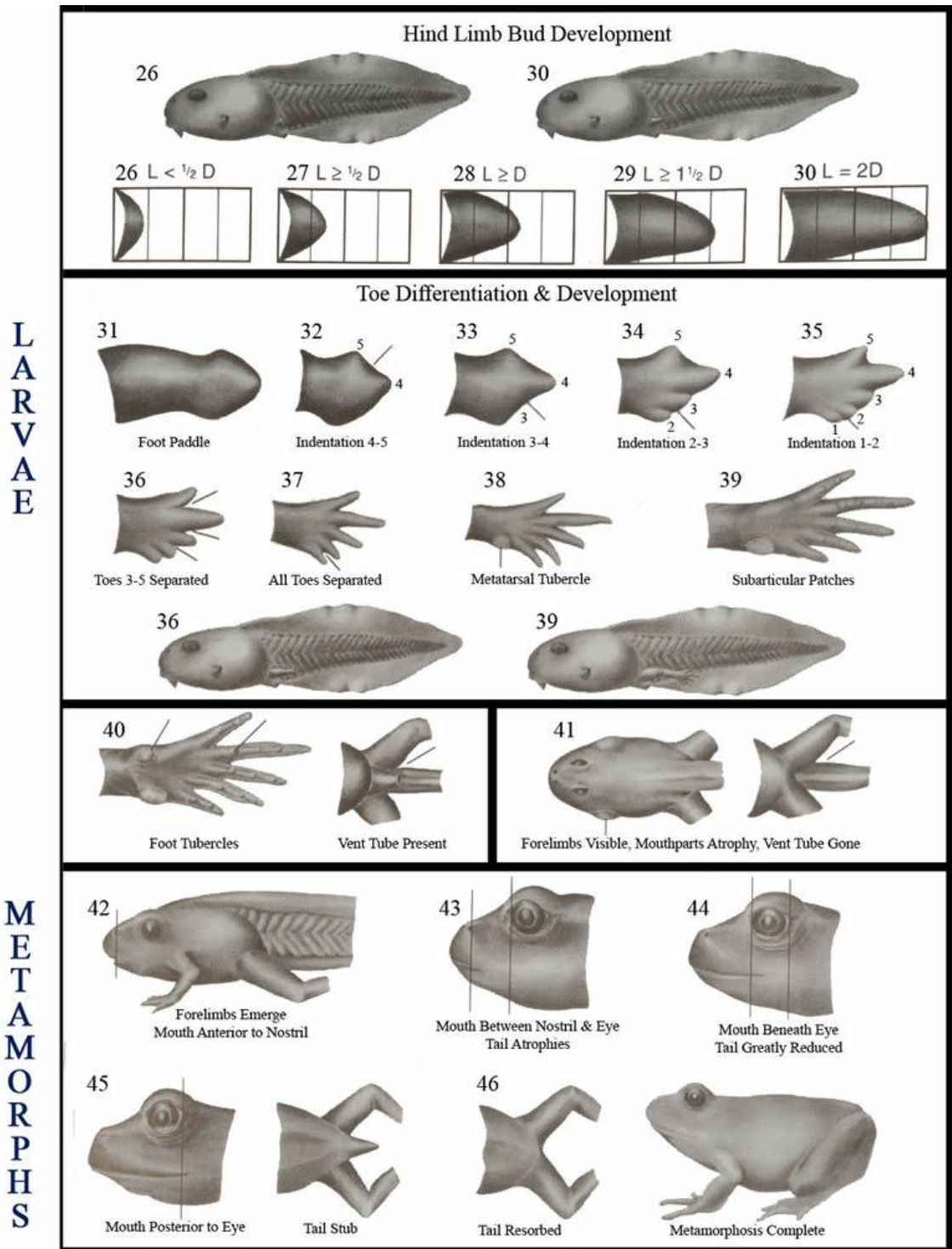
Modelo de la idoneidad del hábitat para esta especie en base al algoritmo de máxima entropía (MAXENT). Las marcas rojas representan localidades donde esta especie ha sido registrada. Para más detalles sobre la generación del modelo y su significado visite la sección de Contenidos. Fecha de generación: 05/Jul/2013



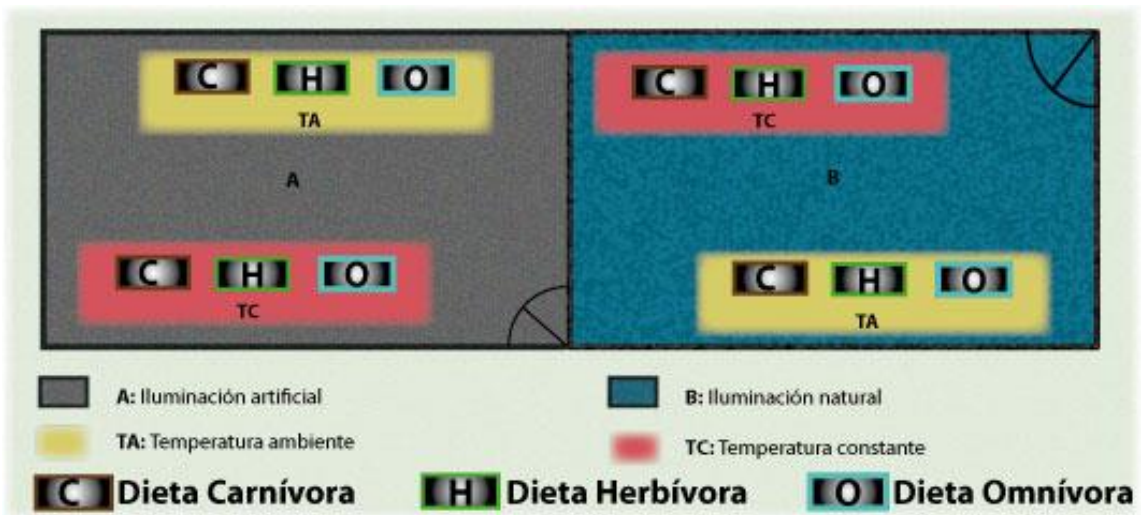
Disponible bajo licencia Creative Commons Attribution 3.0, no-comercial. Usar citando la fuente. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. La información provista por los modelos no debe ser usada en investigaciones o publicaciones sin citar su fuente y sin que antes haya pasado por un proceso de validación. Este proceso es necesario, entre otras razones, porque la base de datos puede tener errores de identificación y georeferenciación.



Anexo 3: Tabla de Gosner



Anexo 4: Instalaciones de la investigación



Anexo 5: Alimentos



Anexo 6: Alimentación diaria de renacuajos



Anexo 7: acuarios individuales



Anexo 8: tabla de registro diario de desarrollo

TABLA DE REGISTRO DATOS – DESARROLLO													
Fecha								Mañan		Tard			
a								a		e			
	Tratamientos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
#	TC	TC	TC	TA	TA	TA	TC	TC	TC IA DO	TA	TA	TA	
Rep	IN	IN	IN	IN	IN	IN	IA	IA		IA	IA	IA	IA
.	DH	DC	DO	DH	DC	DO	DH	DC		DH	DC	DC	DO
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
	Obser.												

Anexo 9: tabla de registro diario de mortalidad

TABLA DE REGISTRO DATOS - MORTALIDAD												
Fecha									Mañana		Tarde	
	Tratamientos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Trat.	TC IN DH	TC IN DC	TC IN DO	TA IN DH	TA IN DC	TA IN DO	TC IA DH	TC IA DC	TC IA DO	TA IA DH	TA IA DC	TA IA DO
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
	Obser.											

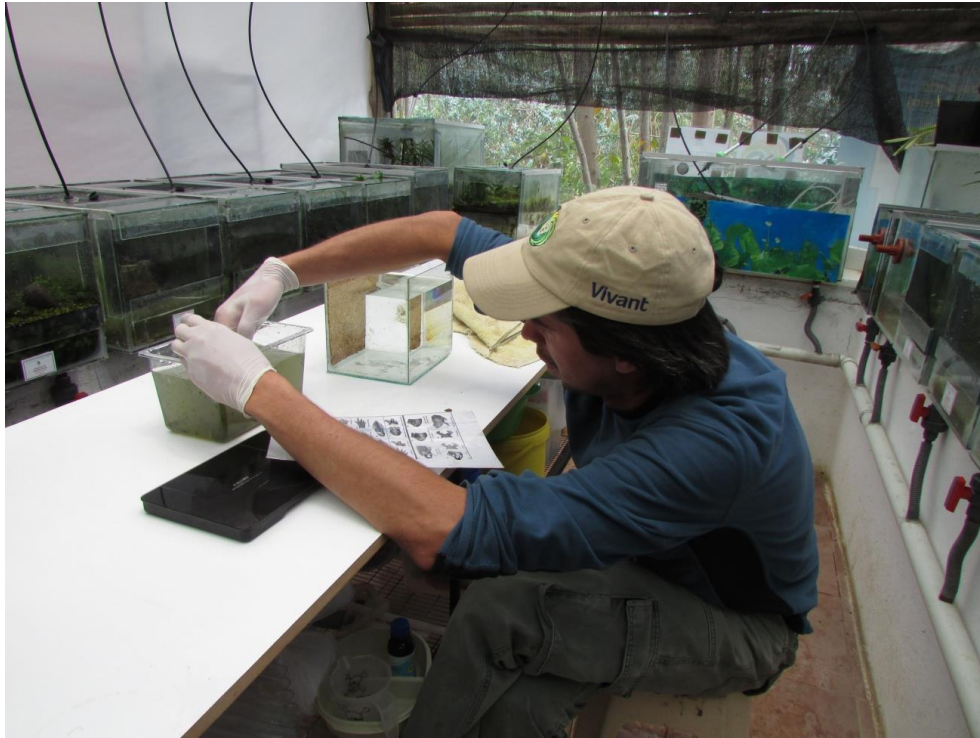
Anexo 10: tabla de registro diario de salud

TABLA DE REGISTRO DIARIA DE DATOS - SALUD													
Fecha									Mañan		Tard		
a									a		e		
	Tratamientos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
#	TC	TC	TC	TA	TA	TA	TC	TC	TC IA	TA	TA	TA	
Rep.	IN	IN	IN	IN	IN	IN	IA	IA		IA	IA	IA	IA
	DH	DC	DO	DH	DC	DO	DH	DC		DO	DH	DC	DO
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
Obser													
.													

Anexo 11: toma mensual de medidas



Anexo 12: toma mensual de pesos



Anexo 13: tabla de registro mensual de peso

TABLA DE REGISTRO DATOS – PESO												
Fecha:									Mañana		Tarde	
	Tratamientos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
# Rep.	TC IN DH	TC IN DC	TC IN DO	TA IN DH	TA IN DC	TA IN DO	TC IA DH	TC IA DC	TC IA DO	TA IA DH	TA IA DC	TA IA DO
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
Observaciones												

Anexo 14: tabla de registro mensual de longitud

TABLA DE REGISTRO DATOS - LONGITUD								
Fecha:								
Tratamiento:								
	LT	LC	LCO	AC	ALC	DN	DIO	AMC
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
<i>Observaciones</i>								

Anexo 15: tabla de registro diario de temperatura

TABLA DE REGISTRO DATOS – Temperatura												
Fecha:									Mañana		Tarde	
	Tratamientos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
# Rep.	TC IN DH	TC IN DC	TC IN DO	TA IN DH	TA IN DC	TA IN DO	TC IA DH	TC IA DC	TC IA DO	TA IA DH	TA IA DC	TA IA DO
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
Observaciones												

